

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en sciences vétérinaires

Option : Epidémiologie des maladies animales et santé publique

Thème : Effet d'un symbiotique sur la charge microbienne intestinale chez le poulet de chair et son impact épidémiologique sur la prévalence des antibiorésistances

Réalisé par : Cartelo Leila Amel

Les membres du jury :

	Nom et Prénom	Grade	Institution
Président	Khelef Djemel	Professeur	ENSV
Promotrice	Aitoudhia Khatima	Professeur	ENSV
Examinatrice	Hafsi Fella	MCA	ENSV
Examinatrice	Azzag Naouel	MCA	ENSV
Membre invité	Kalem Amar	MAA	Université de Blida

Année Universitaire 2016/ 2017

REMERCIEMENTS

Toute ma gratitude, grâce, et remerciement vont à Dieu le tout puissant qui m'a donné la force, la patience, le courage, et la volonté pour élaborer ce travail.

Au président du jury

Professeur Khelef Djmel : qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire.

Je tiens à vous remercier particulièrement monsieur pour votre perpétuelle disponibilité et votre aide précieuse, vos conseils pertinents ainsi que votre rigueur dans le travail ont toujours su m'orienter

Acceptez mes vifs remerciements et ma profonde reconnaissance

A ma promotrice

Professeur Ait oudhia Khatima : tout d'abord je tiens à vous remercier d'avoir accepté de m'encadrer et de diriger ce travail avec simplicité. Votre gentillesse et votre présence continuelle, vos encouragements inlassables, votre amabilité ainsi que votre confiance en moi m'ont permis de rester forte et courageuse. Pour tous les bons moments partagés en votre compagnie.

Trouver ici ma reconnaissance et mon profond respect

Au docteur Azzag Naouel

Maitre de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger la valeur scientifique de ce travail.

Sincères remerciements

Au docteur Hafsi Fella

Maitre de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Sincères remerciements

Je tiens particulièrement à remercier

Docteur Messai Chafik Reda : maitre de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire. Je tiens à vous remercier monsieur pour votre aide précieuse, votre sens de perfection et vos conseils judicieux. Votre disponibilité continuelle, ainsi que le dévouement dont vous avez fait part à mon égard resteront un exemple pour moi.

Acceptez mes vifs remerciements et ma sincère gratitude

Je remercie également **Docteur Kalem** qui m'a suivie et aidé pendant mon essai sur le terrain votre rigueur et vos conseils m'ont guère échappés, je vous remercie monsieur de m'avoir mise à mon aise afin de mener à bien cette expérimentation.

Veillez trouver ici ma gratitude et mon profond respect

Je remercie vivement mon collègue **Menad Rafik**, pour son soutien, ses encouragements et son aide précieuse surtout lors de ma partie expérimentale.

Mes remerciements sont adressés aussi au **Docteur Hachmi Amina** pour tous les conseils dont elle m'a fait part. Sincères remerciements

Je remercie également le propriétaire de l'élevage monsieur Belaid qui m'a ouvert les portes et m'a accueillie chaleureusement au sein de son élevage.

Trouvez ici mes sincères remerciements.

Mes sincères remerciements vont aussi à Boudjelal Louiza la technicienne de laboratoire d'HIDAOA pour sa présence, son aide, et les bons moments qu'on a passé ensemble. Sincères remerciements.

Je tiens à remercier tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

DÉDICACES

Je dédie cet humble travail à tous ceux qui me sont chers :

A MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera pour toujours.

Pour toute votre tendresse, amour et encouragements

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie en espérant que vous serez toujours fiers de moi.

A MES FRÈRES : Reda et Sidahmed

Pour votre soutien et vos encouragements.

Trouvez ici l'expression de ma reconnaissance et de mon affection, que dieu le tout puissant vous protège et vous guide

A ma chère sœur : Zahida

Pour toute la complicité qui nous unie

Qu'elle trouve ici l'expression de mon affection et de ma reconnaissance pour son soutien et ses encouragements incessants.

A mes petits anges : Youcef et Yacine

Pour tout l'amour que je vous porte, votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur

Puisse dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A mes tantes

Pour leur encouragement, leur générosité et leur soutien

A leurs familles

Trouvez ici ma profonde affection et ma sincère estime

A mes cousins

A mes cousines Amina et Mounia

*Sans oublier **Radou**: pour toute l'affection et tous les moments de folie qu'on a passé ensemble*

*A mes amies : **Ikram, Yasmine, Batoul, Sihem, Meriem, Yami , Loubna, Amel.***

*A **Djileli** pour son aide précieuse*

*A **Imed** pour sa présence et soutien permanent sans oublier son aide dans les moments difficiles*

*A ma chère **Amina** : pour toute l'affection que je te porte je ne t'ai jamais oublié malgré la distance qui nous sépare.*

*Dédicace particulière à ma chère copine et sœur **Moufida**: pour tous les moments merveilleux et souvenirs inoubliables partagés, que notre amitié grandisse et dure d'avantage.*

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Résumé

Le but de cette étude, est d'évaluer l'impact de la supplémentation d'un symbiotique sur les paramètres zootechniques, la flore digestive, les antibiorésistances des souches *Escherichia coli* ainsi que la qualité sanitaire de la viande.

3080 poussins de souche ARBOR ARCES sont répartis en deux lots (témoin et expérimental) contenant chacun 1540 sujets vont être suivis durant 63 jours.

Les résultats obtenus indiquent que la supplémentation en symbiotique n'a pas réduit significativement les indices zootechniques suivant (l'ingéré alimentaire, indice de consommation, l'indice de conversion ainsi que le gain de poids) et ceci malgré les écarts enregistrés en faveur du lot supplémenté $P > 0,05$. Cependant, ce traitement a réduit significativement en fin d'élevage (J63) la moyenne du poids vif du lot expérimental ainsi, que le taux de mortalité ou nous avons enregistré pour ce dernier une baisse de près de 44% ; $P < 0,05$.

En revanche le symbiotique n'a pas réduit le nombre des coliformes (totaux et fécaux) ni des *Escherichia coli* au sein du lot supplémenté comparé aux poulets témoins. Ajouter à cela aucune amélioration des antibiorésistances n'est rapportée après l'utilisation du produit symbiotique. Ceci dit, l'ajout de ce dernier a réduit le nombre des bactéries de la FAMT au niveau de la viande.

Nos résultats révèlent des résultats controversés qui méritent d'éventuelles expérimentations effectuées dans de meilleures conditions et avec un plus ample échantillon afin de mieux élucider l'effet du symbiotique.

Mots clés : Symbiotique, Supplémentation, Poulet de chair, Performances zootechniques, Microflore digestive, Qualité de la viande, Antibiorésistances , E.coli

Abstract

The purpose of this study is to evaluate the impact of symbiotic supplementation on zootechnical parameters, digestive flora, antimicrobial resistance of *Escherichia coli* strains and the sanitary quality of meat.

3080 broilers ARBOR ARCES strain divided into two batches (control and experimental) each containing 1540 subjects will be followed for 63 days.

The results obtained indicate that symbiotic supplementation did not significantly reduce the following zootechnical indices (ingested food, consumption index, conversion index and weight gain), despite the differences recorded in favor of lot supplemented $P > 0.05$. However, this treatment significantly reduced the average live weight of the experimental batch at the end of breeding (J63) as well as the mortality rate for which we recorded a decrease of nearly 44% for the latter; $P < 0.05$.

On the other hand, the symbiotic did not reduce the number of coliforms (total and faecal) nor *Escherichia coli* within the supplemented batch compared to the control chickens. Add to that no improvement in antibiotic resistance is reported after the use of the symbiotic product. however, the addition of the product has reduced the number of bacteria in the FAMT meat.

Our results reveal controversial results that deserve possible experiments carried out under better conditions and with a larger sample to better elucidate the effect of the symbiotic.

Key words: Symbiotics, Supplementation, Broiler, Zootechnical performance, Microflora digestive, Meat quality, Antibiotic resistance, *E.coli*

ملخص

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم تأثير مكملات غذائية (سيمبيوتيك) على معاير النمو ، وبكتيريا الجهاز الهضمي، ومقاومة مضادات الميكروبات من سلالات القولونية ونوعية صحة اللحوم.

3080 كتكوت من سلالة أربور أرسيس مقسمة إلى دفتين (الشاهد والتجريبية) كل منها يحتوي على 1540 كتكوت ستتع لمدة 63 يوما.

وتشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن المكملات الغذائية لم تقلل إلى حد كبير من مؤشرات تربية الحيوان التالية (الغذاء المستهلك، مؤشر الاستهلاك، مؤشر التحويل وزيادة الوزن)، على الرغم من الاختلافات المسجلة لصالح الفوج التجريبي $P < 0.05$. ومع ذلك، فإن هذا العلاج خفض بشكل ملحوظ متوسط الوزن الحي للدفعة التجريبية في نهاية التربية (J63)، وكذلك معدل الوفيات الذي سجلنا انخفاضاً بنحو 44% لهذا الأخير. $P > 0.05$.

من ناحية أخرى، فإن السمبيوتيك لم يقلل من عدد الكوليفورم (الكلي والبرازي) ولا العصيات القولونية ضمن الدفعة التجريبية مقارنة مع الدجاج الشاهد. إضافة إلى ذلك لم يتم الإبلاغ عن أي تحسن في المقاومة للمضادات الحيوية بعد استخدام السمبيوتيك. ومع ذلك، فإن إضافة هذا الأخير قد خفض عدد البكتيريا (فامت) في اللحوم .

نتائجنا تكشف عن نتائج مثيرة للجدل التي تستحق تجارب أخرى عميقة في ظل ظروف أفضل ومع عينة أكبر لتوضيح أفضل لتأثير السمبيوتيك.

الكلمات المفتاحية: سيمبيوتيك، إضافة، معاير النمو، ميكروفلورا، نوعية اللحوم، مقاومة المضادات الحيوية،

Liste des figures

Etude bibliographique

- Figure 1.** Effet de la température sur la répartition du poussin au sein de l'élevage.....3
- Figure 2.** Mécanismes d'action proposés des microorganismes probiotiques dans le traitement des infections entériques.....47

Matériels et Méthodes

- Figure 3.** Vue intérieure du bâtiment avec la séparation des deux lots.....61
- Figure 4.** Vue extérieure du bâtiment.....62
- Figure 5.** Poussins au démarrage.....63
- Figure 6.** Pesée du poulet de chair.....68
- Figure 7.** Pesée du foie69
- Figure 8.** Prélèvement du foie par ecouvillonnage.....70
- Figure 9.** Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme.....71
- Figure 10.** Tubes BNensemencés par les échantillons.....73
- Figure 11.** Aspect des colonies *E. coli* sur gélose Hektoen.....75
- Figure 12.** Tubes de milieu TSI.....77
- Figure 13.** Inoculation de la galerie API 20 E.....80
- Figure 14.** Galerie API 20 E après incubation et ajout des réactifs.....81
- Figure 15.** Application des disques imprégnés d'antibiotiques lors de l'antibiogramme....84
- Figure 16.** Disposition des disques d'antibiotique pour le test de synergie.....86
- Figure 17.** Test de synergie positif (en bouchon de champagne).....87
- Figure 18.** Schéma de confirmation des BLSE par le test du double disque.....88
- Figure 19.** Pesée des fientes.....89
- Figure 20.** Prélèvement de viande au niveau du bréchet89
- Figure 21.** Préparation des dilutions.....92
- Figure 22.** Ensemencement des coliformes sur gélose VRBL, VRBG et TBX93
- Figure 23.** Ensemencement de la FAMT sur gélose PCA.....94

Figure 24. Dénombrement sous le compteur de colonie.....	95
---	----

Résultats et discussion

Figure 25. Moyenne des poids vifs à J25 pour le lot témoin et le lot expérimental.....	98
---	----

Figure 26. Moyenne des poids vifs à J45 pour le lot témoin et le lot expérimental.....	98
---	----

Figure 27. Moyenne des poids vifs à J63 pour le lot témoin et le lot expérimental.....	99
---	----

Figure 28. Effet de la supplémentation en symbiotique sur le poids vif (kg) du lot Chez le poulet de chair.....	101
---	-----

Figure 29. Effet de la supplémentation en symbiotique sur le gain de poids chez le poulet de chair.....	103
---	-----

Figure 30. Effet de la supplémentation en symbiotique sur l'ingéré alimentaire.....	105
--	-----

Figure 31. Evolution de l'indice de consommation pour le lot témoin, le lot expérimental et le standard de la souche.....	107
---	-----

Figure 32. Effet de la supplémentation en symbiotique sur l'indice de conversion du poulet de chair.....	109
--	-----

Figure 33. Effet de la supplémentation en symbiotique sur la mortalité (%) du poulet de chair.....	111
--	-----

Figure 34. Effet du symbiotique sur le poids du foie.....	113
--	-----

Figure 35. Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin.....	117
---	-----

Figure 36. Pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental.....	118
---	-----

Figure 37. Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin.....	119
---	-----

Figure 38. Pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental.....	119
---	-----

Figure 39. Pourcentages des résistances des souches <i>E.coli</i> entre le lot témoin et le lot expérimental.....	121
---	-----

Figure 40. Pourcentages des multirésistances des souches <i>E.coli</i> isolées pour le lot témoin.....	129
--	-----

Figure 41. Pourcentages des multirésistances des souches <i>E.coli</i> isolées pour le lot expérimental.....	130
--	-----

Figure 42. Effet de la supplémentation en symbiotique sur la flore coliforme à J45.....135

Figure 43. Effet du symbiotique sur la flore aérobie mésophile totale à J45.....138

Liste des tableaux

Etude bibliographique

Tableau 1. Evolution des normes de chauffage en production de poulets de chair, à l'aide de chauffage d'ambiance ou de chauffage localisé.....	4
Tableau 2. Densité en élevage de poulet de chair.....	8
Tableau 3. Distribution des bactéries intestinales chez le poulet.....	13
Tableau 4. Les principaux microorganismes utilisés comme probiotiques.....	40
Tableau 5. Principaux critères de sélection des probiotiques.....	44
Tableau 6. Les principaux prébiotiques commercialisés.....	57
Tableau 7. Proposition de critères de sélection des prébiotiques à application intestinale.....	59

Matériels et Méthodes

Tableau 8. Température, hygrométrie, vitesse de l'air et taux d'ammoniac ambiant.....	64
Tableau 9. Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai.....	65
Tableau 10. Composition et caractéristiques des aliments utilisés durant l'essai.....	66
Tableau 11. Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.....	82
Tableau 12. Application des disques d'antibiotiques par boîte de pétri.....	84

Résultats et discussion

Tableau 13. Moyenne des poids vifs des sujets mesurée à J25, J45, J63 pour le lot témoin et le lot expérimental.....	97
Tableau 14. Poids vif du lot mesuré à J25, J45 et J63 pour le lot témoin et le lot expérimental.....	100
Tableau 15. Gain de poids, par phase d'élevage et cumulé, des poulets témoins (lot témoin) et ceux recevant le symbiotique (lot expérimental).....	102
Tableau 16. Ingéré alimentaire, par phase d'élevage et cumulé des poulets témoins (lot témoin) et supplémentés (lot expérimental).....	104
Tableau 17. Indice de consommation, relevé à J25, J45, J63 à partir du lot témoin et du lot expérimental....	106
Tableau 18. Indice de conversion, par phase d'élevage des poulets du lot témoin et ceux du lot expérimental.....	109
Tableau 19. Taux de mortalité, par phase d'élevage et cumulé, des poulets du lot expérimental et ceux du lot témoin.....	111

Tableau 20. Pesée du foie à J25 et J45 pour le lot témoin et lot expérimental.....	113
Tableau 21. Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches <i>E.coli</i> isolées.....	120
Tableau 22. Pourcentages des multirésistances des souches <i>E.coli</i> aux antibiotiques (lot témoin).....	128
Tableau 23. Pourcentages des multirésistances des souches <i>E.coli</i> (lot expérimental).....	130
Tableau 24. Principaux antibiotypes d' <i>E.coli</i> isolés à partir du lot témoin.....	132
Tableau 25. Principaux antibiotypes isolés à partir du lot expérimental.....	132
Tableau 26. Nombre de coliformes (totaux et fécaux) ainsi que les <i>E.coli</i> dénombré au niveau des fientes à J45, chez les poulets témoins (lot témoin) et ceux supplémentés en symbiotique (lot expérimental).....	135
Tableau 27. Nombre de colonies représentant la FAMT mesuré au niveau du bréchet, à J45 pour les poulets témoin (lot témoin) et ceux supplémentés (lot expérimental).....	138

Symboles et abréviations

°C : Degré Celsius

> : Supérieur

< : Inferieur

% : Pourcentage

μ : Micro

H : Heure

Min : Minute

ADN : Acide Désoxyribo Nucleique

ARN : Acide Ribo Nucleique

AFC : Antibiotiques facteurs de croissance

AGCC : Acide gras à chaine courte

AGV : Acides Gras Volatils

ATP : Acide tri-phosphate

β – lactamine : Beta Lactamine

D-ala-D-ala : D- alanyl-D-analine

GMQ : Gain Moyen Quotidien

IC : Indice de Consommation

FAO : Food and Agriculture Organization

FOS : Fructo oligosaccharides

PLP : Protéine Liaison Pénicilline

PG : Peptidoglycane

UFC : Unité formant colonie

WHO :World Health Organization

NH₃: Ammoniac

CH₄: Méthane

H₂S : Dioxyde de soufre

PV : Poids vif

CO₂ : Dioxyde de carbone

TCI : Température critique inférieure

TCS : Température critique supérieure

BN : Bouillon nutritif

EPT : Eau peptonée tamponée

SFB : Sélénite F broth

TSI : Triple Sugar Iron

BLSE : β lactamases à spectre étendu

FAMT : Flore aérobie mésophile totale

VRBL : gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge de phénol

VRBG : gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

TBX : tryptone bile x glucuronide

PCA : plate count agar

AUG : Amoxicilline/ Acide clavulanique

AMP : Ampicilline

C : Chloramphénicol

CL : Colistine sulfate

N : Néomycine

CN : Gentamicine

COT : Triméthoprim : Sulfaméthoxazole

F : Nitrofurane

TE : Tétracycline

NA : Acide nalidixique

LE : Enrofloxacin

C3G : Céphalosporines 3^{ème} génération

Sommaire

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Introduction générale

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

<u>Chapitre I. Rappels sur les normes d'élevage chez le poulet de chair</u>	2
I. Température	2
I.1. Effet de la température sur la croissance	3
I.2. Mesures à prendre dans le cas de température élevée.....	3
I.3. Normes de température recommandée.....	4
II. Humidité.....	4
II.1. Norme recommandée	5
III. Emissions gazeuses au cours de la période d'élevage.....	5
III. 1. Ammoniac	5
III.2. Fermentation de la litière.....	5
IV. Ventilation	6
IV.1. L'objectif de la ventilation	6
IV.2. Système de ventilation	6
IV.2.1. Ventilation statique ou naturelle.....	6
IV.2.2. Ventilation dynamique.....	7
IV.3. Norme recommandée.....	7
V. Densité.....	7
V.1. Normes recommandées	8
VI. Litière.....	8

<u>Chapitre II. Microflore du tube digestif de la volaille</u>	11
I. Composition et localisation de la flore du tube digestif.....	11
I.1. Flore luminale et flore des muqueuses.....	14
I.2. Facteurs limitant l'implantation de de la flore digestive	14
I.3. Facteurs de variation de la composition de la flore digestive	14
II. Rôle de la microflore digestive	16
II .1. Effet de la microflore sur la digestibilité des aliments.....	16
II .1.1. Digestion des glucides	16
II .1.2. Digestion des protéines	16
II .1.3. Digestion des lipides	17
II .1.4. Vitamines et minéraux	17
II .2. Rôle de la microflore sur la physiologie digestive	18
II.2.1. Modification anatomique et physiologique	18
II.2.2. Production et hydrolyse du mucus	19
II.2.3. Modification du transit intestinal	19
II.3. Rôle de la flore sur la santé de l'animal.....	19
II .3.1. Stimulation du système immunitaire.....	19
II .3.2. Synthèse de métabolites nuisibles ou utiles.....	20
II.3.2.1. Effet nuisible de la microflore	20
II.3.2.2. Effet bénéfique de la microflore	20
II .3.2.3. Produits à effet mixtes.....	21
II .3.3. Protection contre les microorganismes néfastes	21
II .3.4. Développement de pathologies	21
II .3.5. Conséquence pour les productions animales	22
II .3.5.1. Performances	22
II .3.5.2. Qualités des produits (viande, œufs).....	22

<u>Chapitre III : Les antibiotiques et les antibiorésistances</u>	24
Sous chapitre I : Les antibiotiques	24
I. Introduction.....	24
II. Historique	24
III. Définition	24
IV. Caractéristiques	24
IV.1. Toxicité sélective	24
IV.2. Spectre d'activité	25
IV.3. Activité antibactérienne	25
IV.3.1. Effet bactériostatique	26
IV.3.2. Effet bactéricide	26
V. Classification.....	26
VI. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques	26
VI.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane	27
VI.1.1. β -Lactamines	27
VI.1.2. Glycopeptides	27
VI.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique.....	27
VI.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	28
VI.2.1.1. Aminosides	28
VI.2.1.2. Tétracyclines	28
VI.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome	28
VI.2.2.1. Chloramphénicol	28
VI.2.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines	28

VI.2.3. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G.....	29
VI.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques	29
VI.3.1. Sulfamides et triméthoprimé	29
VI.3.2. Quinolones	29
VI.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles	29
VI.4. Antibiotiques agissant sur les membranes	29
VI.4.1. Les Polymyxines.....	29
Sous Chapitre II : L'antibiorésistance	31
I. Introduction	31
II. Historique	31
III. Définition	31
IV. Les différents types de résistance	31
IV.1. La résistance naturelle	31
IV.2. La résistance acquise	31
V. Biochimie de la résistance	32
V.1. Résistance croisée	32
V.2. Co-résistance	32
VI. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques.....	32
VI. 1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	32
VI.2. Modification de la cible	32
VI. 3. Diminution de la perméabilité	33
VI. 4. Excrétion par efflux	33
VII. Mécanisme génétique de la résistance	33

VIII. Conséquence de la résistance aux antibiotiques	33
Sous Chapitre III : Les alternatifs des antibiotiques	34
I. Introduction.....	34
II. Les produits alternatifs aux antibiotiques.....	34
II. 1 les acidifiants.....	34
II. 2 les prébiotiques	35
II. 2.1. Les hexoses.....	35
II. 2.2. Les disaccharides naturels.....	35
II. 2.3. Les oligosaccharides.....	36
II. 3 les épices et extraits de plantes.....	36
II. 4 les argiles.....	36
II. 5 les enzymes	36
II. 6 les probiotiques	37
II. 7 les symbiotiques	37
<u>Chapitre IV: les probiotiques et les prébiotiques</u>.....	39
Sous chapitre I : Les probiotiques	39
I. 1. Historique et définition	39
I. 2. Les microorganismes utilisés comme probiotiques	39
I. 2.1 Les bactéries lactiques et leur action probiotique	40
I. 2.2 Les bifidobactéries et leur action probiotique.....	41
I. 2.3 Les bactéries non lactiques	42
I. 2.4. Les levures et leur utilisation comme probiotique.....	42
I. 3. Critères de sélection des souches probiotiques	43

I. 3. 1. Choix des microorganismes	44
I. 3.2. Résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif	45
I. 3.3. Adhésion aux cellules intestinales et/ou au mucus	45
I. 3.4. Activités antimicrobiennes	46
I. 3.5. Viabilité et stabilité des microorganismes.....	48
I. 3.6. Résistance aux additifs alimentaires et aux antibiotiques.....	48
I. 4. Mécanisme de lutte contre les pathogènes	48
I. 4.1. Modulation du microbiote intestinale	49
I. 4.2. Par accumulation de métabolites	51
I. 4.3. Neutralisation des produits toxiques.....	51
I. 4.4. Immunomodulation	51
I.4.4.1. Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes de défense non spécifiques.....	52
I.4.4.2. Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes de réponse immunitaires spécifiques.....	52
I.4.4.3. Effet sur le système immunitaire sécrétoire.....	53
I. 5. Les probiotiques en aviculture.....	53
I. 5.1. Efficacité sanitaire.....	53
I. 5.2. Efficacité zootechnique	54
Sous chapitre II : Les prébiotiques	56
II. 1. Symbiotiques et Métabiotiques	56
II. 2. Définition des prébiotiques.....	56
II. 3. Propriétés immunomodulatrices des prébiotiques	58
II. 4. Critères de sélection des prébiotiques	58

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

Objectifs de l'étude	60
I. Elevage	61
I. 1. lieu durée et période de l'étude	61
I. 2. Animaux	61
I. 3. Bâtiment	62
I. 4. Conduite d'élevage	62
I. 5. Equipements d'élevage.....	64
I. 6. Programme sanitaire d'élevage	65
II. Aliment.....	65
III. Modalités de supplémentation en symbiotique.....	66
IV . Traitements expérimentaux.....	67
V. Les paramètres étudiés.....	68
V. 1. Évaluation des paramètres zootechniques	68
V. 1.1. Le poids vif	68
V. 1.2. Gain de poids	68
V. 1.3. Ingéré alimentaire	68
V. 1.4. Indice de consommation et de conversion.....	69
V. 1.5. La mortalité	69
V. 1.6. La pesée du foie.....	69
V. 2. Analyses bactériologiques	70
V. 2 .1. Echantillonnage et prélèvement	70
V. 2. 2. Milieux de culture	70

V. 2. 3. Produits de laboratoire	71
V. 2. 4. Conduite expérimentale	71
V. 2. 5. Bactériologie	73
V. 2.5.1. Isolement des <i>Eschérichia coli</i>	73
V. 2.5.2. Isolement des salmonelles	73
V. 2.5.3. Identification des bactéries.....	74
V. 2.5.3.1. Identification morphologique	74
V. 2.5.3.2. Identification biochimique	75
V. 2.5.3.2.1. Test de la catalase	75
V.2.5.3.2.2. Test oxydase.....	75
V. 2.5.3.2.3. Test des trois sucres.....	76
V.2.5.3.2.4. Test uréase.....	77
V.2.5.3.2.5. Test de l'indole.....	78
V. 2.5.3.3. Identification biochimique par galerie API 20 E	78
V.2.5.4. Antibiogramme.....	81
V. 2.5.5. Etude BLSE	85
V.2.5.1. Définition des bactéries BLSE.....	85
V.2.5.2. Techniques microbiologiques.....	85
V.2.5.2.1. Test de synergie/ test de recherche.....	86
a) Principe.....	86
b) Technique.....	86
c) Lecture.....	86
V.2.5.2.2. Test du double disque/ test de confirmation.....	87
a) Principe	87
b) Technique.....	87
c) Lecture.....	88

V.3. Dénombrement bactérien.....	88
V.3.1. Les prélèvements effectués	88
V. 3.1.1 Prélèvement des fientes	88
V. 3.1.2. Prélèvement de la viande	89
V.3.2. Les germes dénombrés	90
V. 3.3. Les milieux de cultures utilisés	91
a) Milieu de dénombrement des coliformes	91
b) Milieu utilisé pour le dénombrement de la FAMT	91
V. 3.4. Préparation des dilutions	91
V. 3. 5. Ensemencement et incubation.....	92
V. 3. 6. Dénombrement des colonies.....	94
V. 3.6.1. Dénombrement des coliformes	94
V.3.6.2. Dénombrement de la FAMT	94
VI. ANALYSE STATISTIQUE	96

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Performances zootechniques	97
I. 1. Effet du symbiotique sur le poids vif	97
I. 2. Effet du symbiotique sur le gain de poids.....	102
I. 3. Effet du symbiotique sur l'ingéré alimentaire	104
I. 4. Effet du symbiotique sur l'indice de consommation	106
I. 5. Effet du symbiotique sur l'indice de conversion.....	108
I. 6. Effet du symbiotique sur la mortalité	110
I. 7. Effet du symbiotique sur la pesée du foie	113
Discussion générale	115

II. Bactériologie	117
II.1. Isolement et identification des <i>E.coli</i>	117
II. 2. Isolement et identification des salmonelles	118
II. 3. Antibiogramme	120
II. 4. Résistances individuelle par famille d'antibiotiques	122
II.4.1. β -lactamines	122
II.4.2. Les Tétracyclines	122
II.4.3. Les sulfamides	123
II.4.4. Les quinolones.....	124
II.4.5. Les aminosides.....	125
II.4.6. Les polypeptides	126
II.4.7. Les phénicolés.....	126
II.4.8. Les furanes.....	127
II. 5. Les multirésistances	128
II. 5 .1. Lot témoin.....	128
II. 5.2. Lot expérimental.....	129
II. 6. Les antibiotypes	131
II. 6.1. Lot témoin.....	131
II. 6.2. Lot expérimental	132
II. 7. L'étude BLSE.....	134
II. 8. Effet du symbiotique sur la flore coliforme intestinale.....	135
II. 9. Effet du symbiotique sur la flore aérobie mésophile totale (FAMT)	137

Conclusion et perspectives	140
---	-----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Introduction Générale

Introduction générale

La filière avicole algérienne a connu un essor remarquable grâce à son industrialisation au cours de ces quinze dernières années. Néanmoins, l'intensification de l'élevage moderne, place les animaux dans des conditions non naturelles (densité importante, bâtiment, ambiance, microbisme, variabilité de la nature et l'origine des aliments).

En effet cette intensification d'élevage n'est pas sans aléa, puisque elle fragilise sensiblement le poulet ce qui perturbe son bien être réduisant ainsi ses performances.

Cet état de fait, a contraint l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance dont l'utilisation s'est généralisés dès les années cinquante. Des études ont prouvé que l'utilisation des antibiotiques à des doses subthérapeutiques dans l'alimentation animale, stimulait la croissance des animaux, améliorait les performances zootechniques, réduisait le taux de mortalité et de morbidité. Cependant ils ont favorisé l'apparition des résidus d'antibiotiques dans la chaîne alimentaire, l'augmentation des résistances des pathogènes aux antibiotiques (Ungemach *et al.*, 2006 et Aggad *et al.*, 2010) ainsi que des réactions allergiques et des échecs thérapeutiques chez l'homme (Corpet 1996 ; Mathlouthi *et al* 2002).

Face à ces lourdes conséquences, à partir de 2006 l'union européenne a interdit systématiquement l'utilisation des antibiotiques facteurs de croissance dans l'alimentation animale. En Algérie une décision ministérielle n° 472 du 24 Décembre 2006, portant sur l'utilisation des additifs dans l'alimentation animale, interdit l'utilisation des antibiotiques facteurs de croissance.

Dans cette optique, les recherches de solutions non thérapeutiques de substitution aux antibiotiques facteurs de croissance a révélé l'utilisation des symbiotiques. Ces derniers étant un mélange de probiotiques qui sont des microorganismes vivants qui affectent positivement la santé de l'animal en améliorant sa balance microbienne intestinale, et de prébiotiques qui

représentent le substrat de fermentation de ces probiotiques. Leur finalité chez l'animal, serait de renforcer les performances zootechniques de croissance et d'assurer une prévention des troubles digestifs (Auclair, 2001). Cependant la littérature montre que, chez le poulet de chair, l'efficacité zootechnique des symbiotiques reste controversée. En effet cette variabilité des réponses serait liée au fait que ces produits agissent spécifiquement en modulant la flore de l'hôte, qui elle-même varie selon les conditions d'élevages.

C'est dans ce contexte qu'on se propose par le présent travail d'élucider l'effet de l'utilisation des symbiotiques en élevage aviaire.

Ce travail a été organisé en deux parties : **une partie bibliographique**

Dans cette partie nous avons d'abord fait le point sur les conditions d'ambiances au sein d'un élevage avicole chair, nous avons par la suite décrit le rôle de la microflore digestive de la volaille, on a ensuite abordé les antibiotiques et les antibiorésistances et pour finir le dernier volet a concerné l'étude des symbiotiques.

La deuxième partie représente **une partie expérimentale**, où nous avons évalué l'impact de la supplémentation d'un symbiotique sur les performances zootechniques, la microflore digestive, les antibiorésistances des souches *Escherichia coli* ainsi que la qualité sanitaire de la viande.

Etude Bibliographique

Chapitre I : rappels sur les normes d'élevage chez le poulet de chair**I. Température :**

Les poulets appartiennent au groupe d'animaux homéothermes capables de maintenir une température interne constante de leur corps (41°C pour les adultes et 38°C pour les poussins) ceci est vrai dans les limites dite de neutralité thermique (15 à 25°C chez l'adulte et 28 à 38°C chez le poussin).

La température est fonction de l'espèce concernée est surtout de l'âge, les jeunes oiseaux sont les plus exigeants car ils ont plus de difficultés à assurer leur thermorégulation. Le poussin de 1 jour a une plage de confort thermique très étroite, de 31 à 33°C. Cette zone de neutralité thermique est définie par les températures critiques inférieures (TCI) et supérieures (TCS) : en dessous de la TCI ou au-dessus de la TCS, les oiseaux devront mettre en œuvre des mécanismes physiologiques pour maintenir leur température interne. Au fur et à mesure de leur croissance, les températures critiques vont baisser et la plage de neutralité thermique va s'élargir. « Guérin *et al.*, 2011).

Le contrôle de la température doit être sévère durant les premiers jours de vie du poussin, ce dernier ne règle lui-même la température de son corps qu'à l'âge de 5 jours et il ne s'adaptera véritablement aux variations de température qu'à partir de 2 semaines (Surdeau et Henaffi ; 1979).

Toutefois, durant la phase d'emplument (1 jour à 3 semaines d'âge) ils sont sensibles au stress thermique froids, après emplument qui ne sera complet qu'à partir de la 5^{ème} semaine d'âge, ils présentent une excellente isolation et seront plutôt sensibles aux excès de chaleur.

L'hétérogénéité de la température dans un bâtiment, due à une mauvaise maîtrise des circuits d'air, doit être évitée. (Guérin *et al.*, 2011) (figure1) car toute variation de température induit un déséquilibre physiologique, une détérioration de l'état de santé de l'animal est par conséquent une baisse des performances.

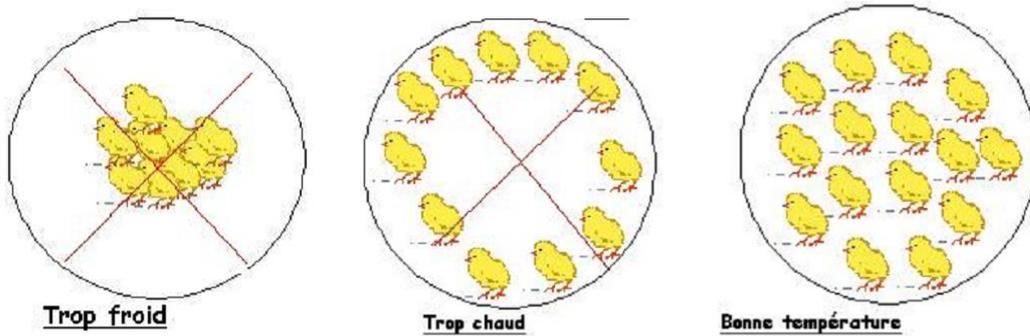


Figure 1 : effet de la température sur la répartition du poussin au sein de l'élevage

I.1. Effet de la température sur la croissance

La volaille est assez tolérante vis-à-vis des variations de températures, elle redoute les écarts de températures trop brusques, car au-delà des températures de bien être la consommation d'aliment diminue (BELLAOUI, 1990)

La croissance est diminuée à partir de 24°C, la respiration du poulet augmente ainsi que sa consommation d'eau, si la température dépasse 29°C le poulet abaisse sa consommation alimentaire et recherche les endroits ventilés.

A l'inverse lorsqu'il a froid on observe chez le poulet une augmentation très sensible de la consommation (Surdeau et Henaffi ;1979).

I.2. Mesures à prendre dans le cas de température élevée

La prévention du stress due à la chaleur se résoud en quelques mesures de gestion, grâce auxquelles on établit ou on favorise des circonstances dans lesquelles le mécanisme de perte de chaleur chez les animaux peut continuer à fonctionner au maximum ces mesures sont : (article poulet de chair)

- Suivre les émissions météorologiques ;
- Préparer les équipements nécessaires ;
- Arrêter le fonctionnement de l'éleveuse ;
- Limiter la consommation alimentaire ;
- Augmenter le nombre d'abreuvoirs ;
- Distribuer une eau fraîche fréquemment renouvelable ;
- Distribuer des produits pharmaceutiques rafraîchissants tels que : Vitamine C ; Aspirine, Vinaigre, L Carnitine et le sulfate de magnésium dans l'eau de boisson ;

- Épandre des produits acidifiants dans la litière ;
- Bien isoler les parois du bâtiment ;
- Connaître l'humidité de l'air ;
- S'assurer que la température diminue à l'intérieur du bâtiment ;
- Mettre en action des ventilateurs ou des brumisateurs ou des filtres humides.

I.3. Normes de température recommandée

Tableau 1 : évolution des normes de chauffage en production de poulets de chair, à l'aide de chauffage d'ambiance ou de chauffage localisé (radiants) d'après H.Valancony, Anses Ploufragan

		Chauffage localisé (radiants)		Evolution du plumage
Age (jours)	Chauffage en ambiance : Température Ambiante (°c)	Température sous radiant (°c)	Température de l'aire de vie	
0-3	33-31	38	>28	duvet
3-7	32-30	35	28	Duvet+ ailes
7-14	30-28	32	28	Duvet+ailes
14-21	28-26	29	26	Ailes +dos
21-28	26-23	-	26-23	Ailes +dos+bréchet
28-35	23-20	-	23-20	
>35	20-18	-	20-18	

II. Humidité :

L'hygrométrie n'a pas d'action directe sur le comportement du poulet mais peut causer indirectement des troubles. Elle résulte essentiellement de la vapeur d'eau expirée par les animaux, et dépend étroitement de la densité, la ventilation et la température ambiante (Guérin *et al.*, 2011).

Un climat chaud accompagné d'une hygrométrie élevée diminue les possibilités d'évaporation pulmonaire et par conséquent l'élimination de chaleur ceci induit une baisse des performances zootechniques comparé à un milieu chaud avec une hygrométrie modérée.

L'humidité est un facteur qui influence essentiellement le développement des agents pathogènes et l'état de la fermentation de la litière.

II.1. Norme recommandée

Les valeurs recommandées varient de 60 à 75% selon le type de production, Ainsi une humidité excessive favorise la survie de certains agents pathogènes à l'inverse une humidité inférieure à 60% augmente la concentration des poussières en suspension (Guérin *et al.*, 2011).

III. Emissions gazeuses au cours de la période d'élevage :

III. 1. Ammoniac :

L'ammoniac est un gaz détectable à l'odeur à partir de 5ppm. Il est irritant pour les yeux et l'appareil respiratoire de l'homme à partir de 10 à 20 ppm selon les individus, alors qu'il a des conséquences respiratoires pour les volailles à partir de 15ppm (Guérin *et al.*, 2011).

La formation d'ammoniac (NH₃) dans les poulaillers est attribuée à la décomposition microbienne de l'acide urique dans la litière sous l'action des bactéries uricolytiques ces bactéries se multiplient d'autant que la litière est humide, chaude et que son PH est élevée. Un grand nombre de moisissures et de bactéries intervenant dans ces processus enzymatiques sont identifiées sans qu'aucune d'entre elles ne soit capable de décomposer complètement le substrat initial en NH₃. Quelques-unes décomposent l'acide urique en urée ou en d'autres intermédiaires. Par conséquent, au sein de la litière, des groupes de microorganismes en combinant leurs effets peuvent dégrader complètement l'acide urique en dioxyde de carbone (CO₂) et ammoniac (ITAVI, 1997b).

L'ammoniac augmente la production du mucus trachéal, paralyse son activité ciliaire vibratoire jusqu'à arriver à la cytotoxicité et entrainer une sensibilité des volailles aux pathogènes respiratoires (Guérin *et al.*, 2011).

III.2. Fermentation de la litière :

En **surface**, les processus enzymatiques en aérobiose impliquant des microorganismes variés au contact des déjections aboutissent à la production d'ammoniac, une hygrométrie de la litière de plus de 30% favorise les fermentations ammoniacales elle est à mettre en relation avec la densité d'animaux, le manque de renouvellement d'air et de vitesse d'air, le manque de chauffage, le gaspillage du système d'abreuvement et éventuellement la condensation sur des parois froides mal isolées qui ruisselle ensuite sur la litière, une augmentation du PH (entre 7,8 et 8,8) favorise les fermentations ammoniacales, qui est en relation avec la quantité d'azote présente dans la litière. En **profondeur**, la fermentation aboutit à la formation de méthane (CH₄), de dioxyde de soufre (H₂S) et de dioxyde de carbone. De ce fait, toute activité de grattage des volailles qui aère la litière peut intensifier les fermentations quand les autres conditions sont réunies. (Guérin *et al.*, 2011).

IV. Ventilation :

Le renouvellement d'air dans un bâtiment vise à éliminer les vapeurs d'eau et les gaz viciés particulièrement l'ammoniac.

La ventilation doit permettre un renouvellement de l'air suffisamment rapide mais sans courant d'air, et doit également permettre le maintien d'une température constante, elle joue dans tous les cas un rôle important dans le maintien de la qualité de la litière (litière sèche) et la bonne santé respiratoire des animaux.

IV.1. L'objectif de la ventilation :

L'objectif de la ventilation est d'obtenir le renouvellement d'air dans le bâtiment afin :

- D'apporter l'oxygène à la vie des animaux.
- D'évacuer les gaz toxiques produits dans l'élevage : ammoniac, dioxyde de carbone, sulfure d'hydrogène.
- D'éliminer les poussières.
- De réguler l'ambiance du bâtiment et d'offrir aux volailles une température et une hygrométrie optimales (FEDIDA, 1996).

IV.2. Système de ventilation :

IV.2.1. Ventilation statique ou naturelle :

Le système le plus simple, la ventilation est assurée par des mouvements naturels de l'air à l'intérieur du poulailler. La ventilation verticale est réalisée par des fenêtres et la ventilation horizontale est obtenue à l'aide de trappes placées sur les façades (BELLAOUI, 1990).

IV.2.2. Ventilation dynamique :

La ventilation dynamique est beaucoup plus efficace que la naturelle et plus recommandable pour les climats froids (FERNANDEZ et RUIZ MATAS, 2003). Cette ventilation nécessite l'emploi des ventilateurs humidificateurs (plus de dépenses) mais efficace dans toute saison (BELLAOUI, 1990). Le renouvellement de l'air peut être parfaitement contrôlé par régulation du débit de la pression et de la vitesse de l'air. Cet air est d'ailleurs extrait ou pulsé par des ventilations à débits théoriques connus.

IV.3. Norme recommandée

Les besoins de renouvellement d'air pour apporter suffisamment d'oxygène dans un bâtiment d'élevage sont en moyenne de 0,1 à 0,3m³ par kilo de poids vif et par heure (kg PV /h) alors que pour éliminer le dioxyde et le monoxyde de carbone ils sont en hiver de 0,4 à 0,8 PV/h et pour évacuer l'humidité ils sont encore un peu plus élevés, à savoir de 0,5 à 1,2 m³ /kg PV /h, et enfin de 1 à 1,5 m³ /kg PV /h, pour évacuer l'ammoniac. On voit donc que ce n'est pas l'apport d'oxygène qui est le facteur limitant dans la ventilation mais bien l'élimination de l'ammoniac. Tout cela est particulièrement vrai en saison froide et humide, alors qu'en période estivale c'est l'élimination de la chaleur qui deviendra le facteur limitant (besoin= 3-5 m³ /kg PV /h) (Guérin *et al.*, 2011).

V. Densité :

La densité est définie comme étant le nombre de sujets par unité de surface. C'est un paramètre important qui doit être contrôlé tout au long de la période d'élevage. Au-delà du nombre des sujets au m², c'est le poids d'animaux qu'il faut prendre en compte, car c'est lui qui déterminera la quantité de déjections sur la litière et le dégagement de vapeur d'eau et de CO₂ (Guérin *et al.*, 2011).

La densité d'élevage est déterminée par un certain nombre de paramètres qui peuvent être des facteurs limitant comme l'humidité ambiante, la température et les conditions d'ambiance correctes.

Il est parfois nécessaire de réduire la densité pour maintenir soit une litière correcte, soit une température acceptable.

V.1. Normes recommandées :

La densité de peuplement est de 10 poulets/ m² (LAOUER, 1987 ; BELLAOUI, 1990 ; FADIDA, 1996 et NOURI, 2002).

La majorité des auteurs confirment que le nombre des sujets/ m² ne doit pas dépasser 10 sujets/ m².

Tableau 2 : Densité en élevage de poulet de chair

Âge	Densité (nombre d'animaux au m ²)
0-2 semaines	40 sujets
2-4 semaines	20 sujets
4 semaines et plus	10 sujets

Source : BELLAOUI, 1990 et FADIDA, 1996

Une densité élevée favorise l'apparition de pathologies tels que (picage, griffage, risque d'accident, développement de certaines maladies comme la coccidiose, ainsi que la diminution de la qualité de la viande) (LAOUER, 1987).

VI. Litière:

La litière contribue à l'obtention et au maintien d'une température ambiante adaptée en isolant le sol. Sa capacité isolante dépend de son épaisseur et de sa nature. Elle isole thermiquement les animaux du sol en minimisant les pertes par conduction principalement à partir des pattes et éventuellement du bréchet, tant que celui-ci n'est pas complètement emplumé ou lorsque ces parties anatomiques sont souillées ou lésées. Lorsque les volailles se déplacent ou se reposent sur une litière humide, une thermolyse importante peut s'opérer à partir des pattes et du bréchet, provoquant ainsi un refroidissement important à ce niveau. La dégradation de la litière peut donc augmenter jusqu'à 5 ou 6 °C la température critique inférieure des oiseaux (ITAVI, 1997a).

VI.1. Normes recommandées :

La litière peut être faite de paille hachée, de copeaux de bois blanc non traité, elle doit avoir 10 à 15 cm d'épaisseur, soit 6kg/m².

VI.2. Rôle de la litière :

La litière joue d'abord le rôle d'isolant thermique, elle assure par ailleurs le confort des animaux en absorbant l'humidité des déjections et en assurant l'isolation de ces derniers du contact avec le sol (micro-organisme et froid).

VI.3. Qualité de la litière :

Il est recommandé que la litière doit être :

- sèche : de façon à assurer le confort thermique des animaux ;
- saine : elle ne doit pas être le support de développement d'agents pathogènes ni de poussières ;
- souple : pendant toute la durée de l'élevage, pour assurer le confort physique des animaux ;
- pas trop fermentescible pour éviter les dégagements d'ammoniac ;
- absorbante : afin d'assurer l'absorption de l'humidité des fientes ;
- épaisse : car il est difficile de maintenir une litière correcte si son épaisseur est insuffisante au départ.

Dans le cas contraire une mauvaise litière sera :

- humide : cet état favorisera les dégagements d'ammoniac et détériorera le confort des animaux (difficulté de déplacement, perte de chaleur importante par conduction, brûlures sur les différents points d'appuis ou de contacts, aux pattes, aux genoux, au bréchet). L'addition de superphosphate peut permettre d'assécher la litière ;
- grasse : lors d'entérites sévères, certaines protéines plasmatiques (collagène, fibrinogène) sont excrétées en quantités importantes dans la litière, lui conférant ainsi cet « aspect gras ». Cet état de la litière peut provenir également de l'excrétion de matières grasses non digérées ;
- croûtée : le phénomène de croûtage est susceptible de se développer dans les zones où il y a des pertes d'eau sous les abreuvoirs notamment. Un stress thermique froid peut également induire des diarrhées responsables de la formation d'une croûte. L'Institut Technique Avicole conseille de repailler à la demande pour éviter ce défaut.

Certains éleveurs passent préalablement un motoculteur pour casser les croûtes de la litière et l'aérer de nouveau.

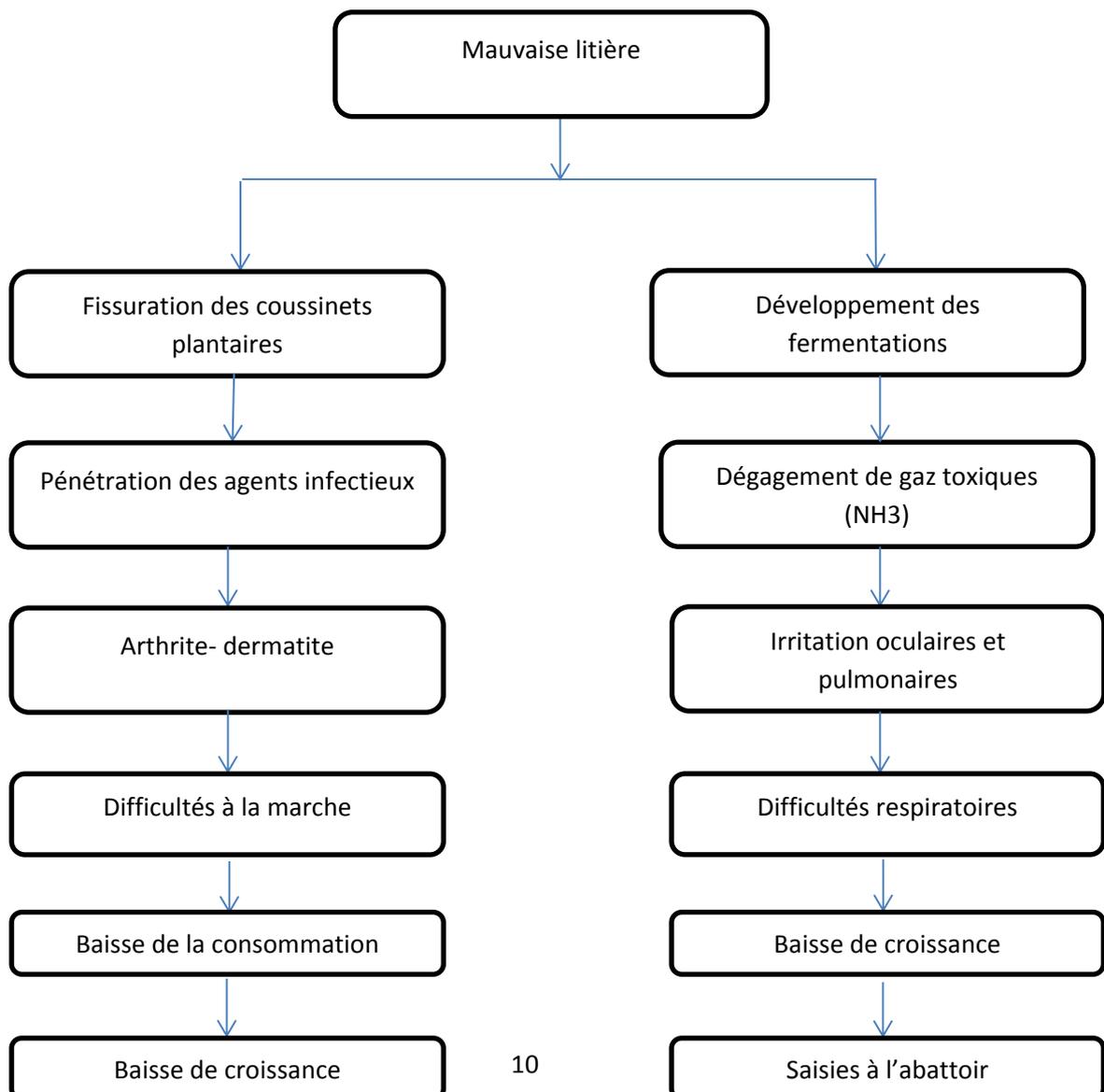
- poussiéreuse : les poussières en suspension constituent des supports très efficaces de dissémination de différents microorganismes pathogènes notamment à tropisme respiratoire, (ITAVI, 1997a, 2009).

VI.4. Causes d'une mauvaise litière :

En effet, la qualité de la litière est le témoin des conditions d'élevage et de santé des poulets. Les causes de mauvaise litière sont :

sol humide ou froid, litière insuffisante, non absorbante, trop tassée, forte densité par rapport à l'âge des poules, microbisme, matériel d'abreuvement non réglé ou mal répartie, ventilation insuffisante ou mauvais circuit d'air, ambiance froide, problèmes pathologiques..etc.

VI.5. Conséquence d'une mauvaise litière :



Chapitre II : microflore du tube digestif de la volaille :

Chez les oiseaux la flore intestinale est composée principalement dans la partie supérieure (jabot) de *Lactobacilles*, alors que les caeca hébergent surtout des anaérobies strictes. Cette microflore dépend de nombreux facteurs tel que l'âge des animaux, l'environnement, le stress et l'aliment (Gabriel et al., 2005) Elle entraîne des changements de structure et du fonctionnement du tube digestif. Elle entraîne des modifications de la digestion des aliments, ainsi qu'une augmentation des besoins énergétiques. La flore indigène a des conséquences sur la santé de l'animal du fait de la production de différents métabolites. Ainsi, elle peut avoir un effet protecteur vis-à-vis des micro-organismes néfastes et est responsable en partie du développement du système immunitaire intestinal. Tous ces effets de la microflore ont des conséquences sur la croissance de l'animal, ainsi que sur la composition et la qualité organoleptique de la viande et de l'œuf. Cela montre qu'une connaissance plus approfondie de la microflore et de ses conséquences sont nécessaires pour essayer de l'orienter dans un but bénéfique à l'animal et au producteur.

I. Composition et localisation de la flore du tube digestif :

Chez le poulet , les entérocoques et les lactobacilles sont les espèces dominantes dans le jabot, le duodenum et l'iléon durant la première semaine après éclosion, par contre, les entérocoques , les coliformes , et les lactobacilles sont aussi présentes en nombre élevé dans le caecum (Wielen et al., 2000) après la première semaine de l'éclosion un groupe complexe de bactéries anaérobies domine le caecum et les lactobacilles deviennent dominants dans le jabot, le duodenum et l'iléon .après la deuxième et la troisième semaine la microflore s'établit et devient stable (Snel et al.,2002).

Dans le jabot :

Le jabot est composé d'environ 10^8 à 10^9 bactéries par gramme de contenu frais (Bjerrum et al., 2006). Dans ce segment sont retrouvés essentiellement des bactéries anaérobies facultatives avec une prédominance du genre *Lactobacillus* (Gong et al., 2007). D'autres genres bactériens tels que les *Bacteroides*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et des entérobactéries ont également été détectés dans ce segment (Bjerrum et al., 2006).

Proventricule :

Le proventricule par ses conditions physico-chimiques notamment une forte Concentration en HCl et pepsine ne permet pas une colonisation de ce segment.

Le gésier :

Le gésier est en aval du proventricule et possède un environnement acide ce qui a tendance à diminuer la teneur en microorganismes. On retrouve ici de 10^7 à 10^8 bactéries par gramme de contenu frais avec encore ici les *Lactobacillus* qui sont retrouvés majoritairement. Les mêmes genres bactériens que dans le jabot sont détectés mais en concentration moins importantes (Shakouri et al., 2009).

Duodénum et jéjunum :

Comme dans les segments précédents, les genres bactériens *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et des *entérobactéries* sont détectés avec encore une fois une prédominance du genre *Lactobacillus*. On retrouve dans chacun de ces segments de 10^8 à 10^9 bactéries par gramme de contenu frais (Engberg et al., 2004).

Iléon :

On retrouve dans ce segment de 10^8 à 10^9 bactéries par gramme de contenu. Les lactobacilles sont une fois de plus les plus représentés allant de 10^7 à 10^9 bactéries par gramme de contenu frais. On observe une plus grande diversité dans l'iléon que dans les segments précédents avec notamment une concentration importante de bactéries anaérobies facultatives des genres *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus* mais aussi des bactéries anaérobies strictes telles que les *Clostridium* et *Bacteroides* (Wise & Siragusa, 2006).

Les caeca :

Les caeca possèdent l'environnement le plus riche en bactéries de tout le tube digestif allant de 10^8 à 10^{11} bactéries par gramme de contenu (Engberg et al., 2004). Les caeca possèdent un environnement dépourvu en oxygène, on retrouve donc une flore anaérobie stricte dont les genres dominants sont les *Clostridium* allant de 10^8 à 10^{10} bactéries par gramme de contenu. Il s'agit plus particulièrement des bactéries des clusters IV et XIV (Apajalahti et al., 2004) mais également d'autres genres tels que les *Bacteroides* (jusqu'à 10^9 bactéries par gramme) ainsi que *Escherichia* (jusqu'à 10^{10} bactéries par gramme) et

Lactobacillus (jusqu'à 10^9 bactéries par gramme) qui sont aéro-tolérants (Mead, 1989, Wise & Siragusa, 2006).

La flore digestive comprend des bactéries et des champignons. Chez le poulet, 29 genres bactériens ont été identifiés (Fuller, 1984). Chaque genre serait représenté par 3 à 4 espèces, et chaque espèce par 3 à 4 types métaboliques différents, ce qui ferait plus de 200 types différents, sachant que seulement 25% des souches seraient identifiées. Le tube digestif contient donc une large population bactérienne de différents types métaboliques et morphologiques. Ainsi, le nombre total de cellules bactériennes est plus important que le nombre de cellules eucaryotes constituant le corps de l'hôte (Gabriel et al., 2005).

La flore normale de poulet renferme par gramme de fèces (log UFC/g) : *Escherichia coli* (6,6), *Clostridium perfringens*(2,4), *Entérocoque* (7,5), *Lactobacilles* (8,5) (Sorum et sunde, 2001). En absence de facteurs agressifs (antibiotiques, stress, pathologie...etc.) la flore digestive reste relativement stable.

Tableau 3 : distribution des bactéries intestinales chez le poulet (Jin et al., 1997)

Groupe bactérien	Pourcentage des isolats au niveau de chaque section intestinale		
	Duodénum	Jéjunum – iléon	Cecum
<i>Streptococcus</i>	20.0	18.8	2.5
<i>Staphylococcus</i>	1.0	1.5	–
<i>Lactobacillus</i>	60.0	51.7	1.3
<i>Escherichia coli</i>	16.5	17.0	2.0
<i>Coques anaérobiques</i>	2.5	5.8	20.4
<i>Eubacterium</i>	–	–	21.2
<i>Propionibacterium</i>	–	–	2.0
<i>Clostridium</i>	–	–	8.0
<i>Fusobacterium</i>	–	5.2	12.0
<i>Bactéroïdes</i>	–	–	30.6
Anaérobies facultatives	75.0	71.0	5.8
Anaérobies obligatoires	25.0	29.0	94.2

I.1. Flore luminale et flore des muqueuses :

La flore digestive peut se trouver dans la lumière intestinale ou adhérer à la muqueuse digestive. La flore luminale dépend des nutriments disponibles, de la vitesse de transit et de la présence ou non de substances antimicrobiennes. La flore des muqueuses dépend de l'expression par l'hôte de sites d'adhésion spécifiques sur les membranes des entérocytes, de la vitesse de production de mucus, de la production d'anticorps (Ig) sécrétoires, et de l'extrusion de matériel cellulaire de la membrane. En pratique, un organisme ne peut coloniser l'intestin que s'il se multiplie à une vitesse suffisamment rapide pour compenser son élimination par le transit digestif, ou s'il s'attache à la muqueuse. Les bactéries ainsi fixées sont particulièrement importantes du fait de leur contact étroit avec l'hôte et de leur rôle dans le contrôle des pathogènes, de la modulation de l'immunité et de leurs effets sur l'absorption des nutriments par l'hôte. Cette flore a cependant été peu étudiée, bien qu'elle soit différente de la flore luminale (Gong et al 2002, Zhu et al 2002).

I.2. Facteurs limitant l'implantation de de la flore digestive :

Chez le poulet, les deux principaux sites d'activité bactérienne sont le jabot et les caeca. Globalement, la flore du jabot à l'iléon terminal est composée principalement d'anaérobies facultatives alors que les caeca contiennent en plus des anaérobies strictes, ces derniers étant dominants, En effet, le contenu de cet organe étant rarement renouvelé (1 à 2 fois/jour), cela le rend favorable au développement des bactéries. (Fuller, 1984). Dans le jabot, on trouve principalement des *lactobacilles* qui peuvent être attachés à l'épithélium en formant presque une couche complète. On trouve aussi des *entérocoques*, des *coliformes*, et des *levures*. Dans le gésier et le proventricule, le faible pH fait chuter la population bactérienne. Dans le duodénum, le nombre important d'enzymes, la forte pression en oxygène et la présence de fortes concentrations de composés antimicrobiens tels que les sels biliaires limitent la croissance bactérienne. On trouve principalement des lactobacilles ainsi que des entérocoques et des coliformes. Plus loin dans l'intestin, l'environnement devient plus favorable à la croissance bactérienne à cause de la plus faible pression d'oxygène, la faible concentration en enzymes et sels biliaires (réabsorption et dégradation en partie par la microflore). Si les aliments sont bien digestibles, par manque de substrat, la flore est limitée.

I.3. Facteurs de variation de la composition de la flore digestive :

De manière générale, la composition de la flore varie selon les individus et dépend de leur âge, et peut aussi être modifiée par des facteurs extérieurs tels que l'environnement, le stress, l'aliment distribué.

a) Souche, sexe, individu

La flore digestive semble différer selon la souche et le sexe des animaux. Chaque individu présente une communauté bactérienne digestive qui lui est propre (Zhu et al 2002). Les caractéristiques immunologiques de l'hôte, des récepteurs spécifiques pour les bactéries ainsi que des systèmes de communication avec les bactéries pourraient être des facteurs importants dans l'établissement d'une communauté bactérienne spécifique de l'hôte.

b) Cinétique d'implantation :

A l'éclosion le tube digestif est stérile mais dès le premier jour, l'intestin est rapidement colonisé par les coliformes, les streptocoques et les clostridies, les lactobacilles ne sont retrouvés dans l'intestin du poulet qu'au-delà de trois jours et les bactéroïdes pas avant cinq jours (Gabriel *et al.*, 2005).

c) L'environnement :

Des populations plus fortes sont observées chez les animaux élevés au sol (sur litière propre ou contaminée) par rapport à des animaux élevés en cages individuelles (Mallet *et al.*, 2001). L'augmentation de la densité d'élevage ou les stress thermiques semblent globalement augmenter les bactéries néfastes au détriment des bactéries bénéfiques (Suzuki *et al.*, 1989). La présence de parasites intestinaux détériorent la muqueuse intestinale induisant la production de nouveaux substrats qui seront utilisés par les bactéries de la microflore (Kimura *et al.*, 1976).

d) Composition et Structure de l'aliment :

La flore digestive peut être modifiée par le type de céréales, en particulier la présence de polysaccharides non amylacés hydrosolubles, ou par leur mode de présentation. Ex : régime à base de blé et d'orge au lieu de maïs entraîne une augmentation des populations bactériennes anaérobies facultatives dont les lactobacilles et les coliformes (Mathlouti *et al.*, 2002). La consommation d'un régime contenant du blé sous forme de graines entières par rapport à du blé broyé entraîne une modification de la flore (Apajalahti *et al.*, 2001,

Gabriel *et al* 2003, Engberg *et al* 2004). La granulation de l'aliment, entraine d'après Engberg *et al* (2002) une augmentation des coliformes et des entérocoques dans l'iléon, ainsi qu'une baisse de *Clostridium perfringens* et des lactobacilles en fin de tube digestif (caeca et rectum).

II. Rôle de la microflore digestive :

La flore digestive semble avoir des fonctions nutritionnelles, métaboliques, immunologiques et protectrices (Lee, 2002; Herich et Levkut, 2002; Lam et al,2005).

II .1. Effet de la microflore sur la digestibilité des aliments

II .1.1. Digestion des glucides :

Parmi les glucides, on distingue deux types : ceux que l'oiseau peut digérer (amidon, dextrine, oligosaccharides et monosaccharides) et ceux qui ne peuvent être utilisés que par la microflore, les polysaccharides non amylacés (cellulose, hémicellulose, substances pectiques). Dans le cas des glucides utilisables par l'hôte, la microflore ne semble pas intervenir. En effet, elle ne modifie pas l'activité des enzymes impliquées dans leur digestion, telles que l'amylase pancréatique (Lepkowsky et al., 1964) ou les dissacharidases intestinales (Siddons et Coates, 1972), ni l'absorption de glucose (Yokota et Coates, 1982). En ce qui concerne les glucides que l'oiseau ne peut utiliser, ils sont fermentés par la microflore, dans le jabot et principalement au niveau des caeca.

II .1.2. Digestion des protéines :

L'effet de la microflore sur la digestibilité des protéines conduit selon les études à des résultats variables, probablement dus aux différences de composition des régimes alimentaires. D'après Salter (1973), la microflore aurait un effet positif sur la digestion des protéines dans le cas des protéines de mauvaise qualité qui sont mal hydrolysées par l'hôte et pourraient être hydrolysées par la microflore. Dans le cas de protéines trop sévèrement modifiées par la chaleur, même la microflore ne pourrait les hydrolyser. Par ailleurs, la microflore pourrait avoir un rôle sur la digestibilité apparente dans la mesure où elle augmente la production de protéines endogènes (mucus, débris cellulaire, biomasse microbienne) (Kussaibati *et al.*, 1982 a), Cependant, globalement, il semblerait que dans le cas d'une alimentation constituée de protéines de bonne qualité, la microflore ait peu d'effet.

II .1.3. Digestion des lipides :

La flore digestive des oiseaux modifie largement les sels biliaires déconjugaison, désulfatation et déhydroxylation (Larbier et Leclercq, 1994). Comme les sels biliaires conjugués servent à la formation des micelles, leur faible concentration réduit la solubilisation des lipides et donc leur absorption, en particulier ceux contenant des acides gras saturés à longue chaîne. Par conséquent, la digestibilité des acides gras insaturés tels que l'acide oléique et linoléique n'est pas modifiée par la présence de microflore, alors que la digestibilité des acides gras saturés tels que l'acide palmitique et stéarique est fortement diminuée (Boyd et Edwards 1967).

II.1.4. Vitamines et minéraux :

Les vitamines regroupent des composés organiques divers en termes de structures, de propriétés (liposolubles ou hydrosolubles par exemple) et de fonctions (vision, métabolisme osseux, antioxydant, synthèse des acides gras, coenzyme...). Toutes sont actives à très faible dose et indispensables à l'organisme : les situations de carence entraînent de graves troubles (cécité, déformation osseuse...) et sont généralement mortelles. Si quelques-unes sont synthétisées par la flore digestive, l'organisme n'est généralement pas apte à produire ces vitamines qui sont alors apportées uniquement par l'aliment,

La microflore agit négativement sur la nutrition minérale (Gabriel *et al.*, 2005) ».Elle réduit l'absorption ou le transport du calcium absorbé par les tissus intestinaux(Smith et soares., 1984), elle diminue également l'absorption du manganèse et entraîne par ailleurs une augmentation des besoins en magnésium et phosphore, cependant elle est sans effet sur d'autres oligoéléments tels que le cuivre, le zinc et le fer (Henry et al., 1987). En revanche de par sa production d'AGV, elle facilite l'absorption des minéraux comme le sodium au niveau des ceaca et du colon (Braun 2003).

La flore bactérienne intestinale assure la synthèse de vitamines (Chafai, 2006). Ainsi, les vitamines hydrosolubles, surtout du groupe B, sont synthétisées en quantités appréciables par la flore bactérienne au niveau des ceacums du poulet (Souilem et Gogny, 1994). Par contre la vitamine K est produite en quantité insuffisante pour répondre aux besoins. En fait les bactéries intestinales synthétisent des vitamines, mais seul l'acide folique serait disponible pour l'animal (Coates 1980).

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

II .2. Rôle de la microflore sur la physiologie digestive :

La microflore et la muqueuse digestive ont des relations à la fois symbiotiques et compétitives qui entraînent des modifications de structure et du fonctionnement du tube digestif

II.2.1. Modification anatomique et physiologique :

Par rapport à des poulets axéniques, les animaux conventionnels, ont un intestin plus lourd et plus long, ainsi qu'une paroi plus épaisse ((Coates, 1980 ; Furuse et Okumura, 1994). Cet épaissement est dû principalement aux tissus connectifs en particulier la lamina propria, et au tissu lymphoïde (augmentation de la taille des plaques de peyer). Les villosités sont plus hautes dans le jéjunum et l'iléon et de formes moins régulières que chez l'oiseau axénique. Les cryptes sont plus profondes tout le long de l'intestin grêle. Cependant les microvillosités sont plus petites ce qui conduit à une surface intestinale plus faible. Le nombre de cellules en division est plus élevé induisant un renouvellement cellulaire accéléré du duodénum distal à l'iléon. Les entérocytes atteignent plus rapidement le haut des villosités, et présentent une plus faible maturité. Avec moins d'enzymes et de transporteurs (Palmer et Rolls., 1983).

Ainsi, l'activité totale (par g de tissus) des enzymes digestives intestinales telles que la maltase et la saccharase est moins élevée. Cependant, les activités de ces disaccharidases exprimées par poids d'animal sont similaires. La présence de flore ne modifierait pas l'activité d'autres enzymes impliquées dans la digestion, telles que l'amylase, la lipase ou la trypsine pancréatique dans les contenus de l'intestin grêle (Lepkowsky et al 1964, Philips et Fuller 1983). De même, l'absorption *in vivo* de nutriments tels que la méthionine et le glucose n'est pas modifiée (Yokota et Coates 1982).

Les caeca des animaux conventionnels ont un poids relatif et une paroi plus épaisse par rapport aux animaux axéniques (Furuse et Yokota 1984).

L'augmentation de la flore par l'introduction de lactose dans l'alimentation entraîne une diminution de l'épaisseur de la lamina propria et une augmentation de la prolifération cellulaire (Tellez *et al* 1993). Le temps de renouvellement cellulaire est plus court dans la

partie distale des caeca par rapport à la partie proximale, probablement du fait de la présence importante de la flore dans cette zone (Takeuchi *et al* 1998).

Les différents métabolites produits par les bactéries tels que les acides gras volatils, l'ammoniac et les amines, seraient responsables du développement plus important des tissus intestinaux (Muramatsu, 1990 ; Furuse *et al.*, 1991).

En présence de flore, les contenus digestifs sont généralement plus acides et le potentiel d'oxydo- réduction plus faible chez les animaux axéniques.

II.2.2. Production et hydrolyse du mucus :

La microflore entraîne une augmentation de la production de mucines (Sakata et Setoyam 1995). Bien que certains micro-organismes s'attachent à l'épithélium du tube digestif d'autres colonisent les mucines de l'iléon, des caeca et du colon.

Le gel formé par le mucus pourrait servir à stabiliser la communauté microbienne. Celle-ci entraîne la modification de la composition chimique du mucus intestinal directement en libérant localement des facteurs bio actifs ou indirectement par l'activation des cellules immunitaires de l'hôte (Deplancke et Gaskins, 2001). Par ailleurs les mucines pourraient être utilisées comme source de carbone et d'énergie par certaines bactéries grâce à leurs activités glycosidiques.

II.2.3. Modification du transit intestinal :

Chez l'oiseau la flore ne semble pas modifier la vitesse de transit (Coates, 1973). Cependant, l'effet de la flore sur le transit pourrait dépendre du type de régime. Ainsi cet effet a été observé dans le cas de régimes contenant des matières premières riches en polysaccharides non amylacés hydrosolubles qui augmentent la viscosité des contenus digestifs (Nahashon *et al* 1994b).

II.3. Rôle de la flore sur la santé de l'animal :

II. 3.1. Stimulation du système immunitaire :

La flore intestinale participe au développement et au maintien d'un système immunitaire intestinal efficace, en agissant probablement à la fois comme source d'antigènes et d'immunomodulateurs non spécifiques (Salminen *et al* 1998).d'une part Elle joue un rôle dans le développement et la régulation de la réponse immunitaire en influençant le nombre, la

distribution et le degré d'activation des populations cellulaires du système immunitaire intestinal d'autre part, elle représente une source majeure de stimuli antigéniques pour la maturation et la migration des cellules lymphoïdes présentes dans les plaques de Peyer .ainsi elle agit sur le développement et la maturation des plasmocytes producteurs d'IgA sécrétoires, ces derniers ayant comme fonction principale d'empêcher la fixation des pathogènes sur la muqueuse intestinale(Chafai,2006) .

Au niveau de la réponse immunitaire systémique, la flore serait responsable de l'évolution de la production d'IgM en IgG (Sato *et al.*, 1986), ces derniers étant les anticorps les plus importants quantitativement.

Elle module aussi la réponse immunitaire spécifique au niveau local et systémique (Salminen *et al* 1998).En particulier, la tolérance orale aux antigènes alimentaires et bactériens peut être profondément modifiée par la flore commensale (Moreau et Gaboriau-Routhiau 2000). La flore digestive intervient aussi dans la modulation de la réponse immunitaire contre les pathogènes.

Les bactéries intestinales ont des propriétés immunomodulatrices différentes suivant les espèces (Maassen *et al* 1998), liées probablement à la composition de leur paroi cellulaire (Herich et Levkut 2002). Ainsi, les conséquences sur la réponse immunitaire de l'animal dépendent de la composition de la flore.

II .3.2. Synthèse de métabolites nuisibles ou utiles :

II.3.2.1. Effet nuisible de la microflore :

La fermentation des aliments par les bactéries induit la production de métabolites qui peuvent être toxiques. Ainsi, La production d'endotoxines par les bactéries gram négatif et leur libération au moment de la lyse bactérienne entraîne de la fièvre et la libération de pyrogènes endogènes, par ailleurs d'autres toxines peuvent affecter la motricité intestinale causant des diarrhées.

II.3.2.2. Effet bénéfique de la microflore :

Les bactéries produisent aussi des composants qui peuvent avoir un effet bénéfique, tels que des vitamines, des acides qui diminuent le pH intestinal et différentes substances antimicrobiennes.

II .3.2.3. Produits à effet mixtes :

Les acides gras volatils synthétisés par la flore bactérienne ont un rôle dans le phénomène d'effet barrière, ainsi que dans le bon fonctionnement du tube digestif étant une source d'énergie pour cette dernière. Par ailleurs ces mêmes acides gras volatils présentent des effets indésirables liés à cet effet bénéfique particulièrement sur les bactéries pathogènes comme pour *salmonella typhimurium* qui augmente sa résistance à l'acidité lors de l'exposition à ces acides gras (Kwon et Ricke., 1998)

Aussi la production d'ammoniac par les bactéries pourrait être utilisée par l'animal pour la synthèse d'acides aminés non essentiels, mais qui est aussi néfaste pour la cellule et doit être détoxifié en acide urique. Les bactéries décarboxylent aussi certains acides aminés conduisant à la formation d'amines qui stimulent la croissance de la muqueuse intestinale mais pourraient également avoir un effet négatif.

II .3.3. Protection contre les microorganismes néfastes

La flore autochtone empêche l'implantation de la flore pathogène. Ce phénomène, appelé 'effet barrière', se met en place avant la maturité complète du système immunitaire du tube digestif.

Les mécanismes à la base de cet effet barrière sont variés. Certaines bactéries bénéfiques créent un micro-environnement hostile aux autres espèces bactériennes. Comme la diminution du pH du milieu conduisant à un effet bactéricide limitant la croissance des bactéries néfastes, cet effet barrière peut être également dû à la production de substances antimicrobiennes comme les acides gras, les bactériocines ou des métabolites de l'oxygène. Par ailleurs Les bactéries bénéfiques modifient les récepteurs utilisés par les bactéries néfastes ou leurs toxines, empêchant ainsi leur développement dans le tube digestif. Elles interviennent aussi par l'utilisation compétitive de nutriments essentiels (Gabriel *et al.*, 2005).

II .3.4. Développement de pathologies

Les fermentations par la flore digestive, en particulier des acides aminés contenus dans les litières, s'accompagnent de la production de composants irritants comme l'ammoniac, entraînant des conjonctivites et des problèmes respiratoires chez l'animal (Thomke et Elwinger 1998). D'autre part, l'utilisation d'AFC a souvent été rapporté comme réduisant l'humidité dans les excreta, avec des conséquences favorables sur la santé des volailles:

réduction des problèmes de pattes, limitation du développement de pathogènes dans les litières.

Certaines bactéries, notamment le *Pedococcus acidilacti*, *Lactobacillus acidophilus*, renforcent l'écosystème des volailles, contribuent à la défense immunitaire et à l'installation de pathogènes tels que salmonelles et clostridies dans le tube digestif de la volaille et donc de protéger les animaux et par conséquent l'homme (Awaad, 2005).

II .3.5. Conséquence pour les productions animales :

II .3.5.1. Performances :

Il a été démontré que les animaux conventionnels ont une croissance moins bonne que les animaux axéniques tout en ayant une consommation similaire. (Kussaibati *et al.*, 1982a, Furuse et Okumura 1994). Ceci pourrait s'expliquer par plusieurs phénomènes. Tout d'abord, chez les animaux conventionnels, la digestion est réduite, en particulier celle des lipides. De plus, les micro-organismes détournent les glucides et les protéines de la ration pour satisfaire leurs propres besoins au détriment de l'hôte. Pour finir, la stimulation du système immunitaire ainsi que l'augmentation du développement de l'intestin et le renouvellement des entérocytes participent au détournement des nutriments aux dépens des processus de production comme le dépôt musculaire.

Cet effet négatif sur la croissance pourrait être aussi lié à la présence de certains micro-organismes. Ainsi, deux types bactériens faisant partie de la flore courante des caeca ont été incriminés : *Streptococcus faecium* et *Clostridium perfringens*. Cependant, ces bactéries ne seraient pas les seules responsables de la baisse de croissance des animaux conventionnels (Fuller, 1984).

II .3.5.2. Qualités des produits (viande, œufs)

La microflore intestinale peut avoir des effets aussi bien sur la qualité bactériologique des produits que sur leur composition ainsi que sur les qualités organoleptiques.

En ce qui concerne la viande, certains effets ont pu être observés sur sa qualité. Ainsi, l'utilisation de probiotiques peut diminuer la teneur en lipides de la carcasse dont le

cholestérol (Wambeke et Peters, 1995 ; Haddadin *et al.*, 1996). Les qualités organoleptiques de la viande peuvent aussi être modifiées.

La présence de flore ainsi que sa modification au moyen de l'alimentation a un effet sur la flaveur de la viande (Harris *et al.*, 1968, Mead *et al.*, 1983), tout comme l'utilisation d'antibiotique (Sheldon et Essary 1982).

Dans le cas de l'œuf aussi bien la surface que l'intérieur peuvent être modifiés par les changements de microflore intestinale liés à l'utilisation d'antibiotiques ou de probiotiques. Ainsi, certains probiotiques peuvent augmenter l'épaisseur de la coquille (poids de l'œuf identique), sa teneur en calcium, ainsi que sa résistance (Mohan et al., 1995 ; Tortuero et Fernandez, 1995 ; Angelovicova *et al.*, 1996 ; Panda *et al.*, 2000).

la qualité de l'albumen de l'œuf peut également être améliorée par l'ajout de certains probiotiques (Nahashon *et al.*, 1994a) mais en contrepartie la teneur en cholestérol du jaune peut être réduite par l'utilisation de ces derniers (Mohan *et al.*, 1995)

par ailleurs le mauvais goût des jaunes des œufs bruns que l'on observe parfois même en l'absence des matières premières critiques (colza, farine de poisson) peut être supprimé par l'ajout des certains antibiotiques (Zentek et Kamphues, 2002).

Chapitre III : Les antibiotiques et les antibiorésistances

Sous chapitre I : Les antibiotiques

I. Introduction

Les maladies infectieuses, notamment bactériennes restent au premier rang des causes de décès les plus fréquentes dans le monde. Parmi l'ensemble des médicaments utilisés dans le but de lutter contre ces maladies, les antibiotiques sont sans aucun doute les plus utilisés, ont fait progresser l'espérance de vie de plus de 10 ans (McDermott *et al.*, 1982).

II. Historique

En 1877, Pasteur et Joubert expérimentèrent et théorisèrent la concurrence vitale entre microorganismes (aussi appelée antibiose), en l'occurrence entre bactéries en décrivant le principe actif de cet organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie.

En 1929, Fleming découvre un *Penicillium* sur une boîte de Pétri. Il met en évidence l'inhibition du staphylocoque doré par cette culture de *Penicillium*. En 1940, Chain obtient une forme stable et utilisable *in vivo* (essais sur des souris) de la pénicilline, qui permettra l'élaboration du premier antibiotique. En 1942, production à l'échelle industrielle de la pénicilline qui sera utilisée et bénéfique pendant la 2^{ème} guerre mondiale.

III. Définition

Un antibiotique est une substance chimique d'origine naturelle ou synthétique ayant une action sélective et ciblée sur les micro-organismes : bactéries ou protozoaires, à l'exception notable des virus, sur lesquels ils sont sans effet.

Un grand nombre d'antibiotiques sont fabriqués par des micro-organismes : des champignons ou d'autres bactéries, ces dernières les produisent dans le but d'éliminer les bactéries concurrentes avec lesquelles ils sont en compétition dans leur biotope (Euzeby, 2005 ; Lavigne, 2007).

IV. Caractéristiques

IV.1. Toxicité sélective

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions antibiotique-bactéries d'une part et antibiotique-organisme d'autre part. Cependant, un antibiotique peut tuer ou inhiber le germe pathogène en le ciblant spécifiquement sans pour autant être nocif pour l'organisme; c'est-à-dire en portant le moins préjudice pour l'hôte. Par exemple : la pénicilline qui inhibe les enzymes responsables de la synthèse du peptidoglycane bactérien n'a que peu d'effets sur les cellules hôtes car elles ne possèdent pas de peptidoglycane (Alami *et al.*, 2005)

IV.2. Spectre d'activité

Également appelé champ d'efficacité d'un antibiotique, il définit la liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs. Le spectre est propre à chaque antibiotique, et peut varier dans le temps à la suite de l'apparition de nouvelles résistances chez les différentes espèces bactériennes.

L'antibiotique peut être :

- À spectre étroit : quand son activité se limite à une variété de microorganismes;
- À large spectre : quand il agit contre différents types d'agents pathogènes (Lavigne, 2007; Nauciel et Vildé, 2008).

IV.3. Activité antibactérienne

C'est l'effet qu'exerce un antibiotique sur une bactérie; allant de l'inhibition du développement et de la croissance bactérienne (bactériostase) jusqu'à la destruction totale de la bactérie (bactéricide) (Nauciel et Vildé, 2008).

Cette activité antibactérienne est caractérisée en pratique par :

- Posséder une cible bactérienne spécifique;
- Accéder et pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne;
- Être capable de se lier à sa cible;
- Demeurer sous forme active;
- Interagir efficacement avec sa cible, en l'inactivant.

Si une de ces conditions est absente la souche sera résistante à l'antibiotique (Alami *et al.*, 2005; Chomarar, 2012).

IV.3.1. Effet bactériostatique

C'est l'effet qui entraîne l'inhibition temporaire et réversible de la croissance et de la prolifération bactérienne par l'antibiotique (Helali, 2002; Nauciel et Vildé, 2008).

IV.3.2. Effet bactéricide

C'est l'effet qui entraîne la mort des bactéries en réduisant leur nombre initial (Yeni, 2003; Nauciel et Vildé, 2008).

V. Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon plusieurs critères, parmi eux : l'origine, le mode action, le spectre d'activité, la nature ou la structure chimique (Auckenthaler, 1995).

Toutefois, pour un praticien, les critères les plus importants sont le mode d'action, bactéricide ou bactériostatique, et le spectre d'activité (Alami *et al.*, 2005 ; Abdennebi, 2006).

VI. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques

Le principe d'action des antibiotiques consiste à inhiber ou à bloquer sélectivement une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la survie ou à la multiplication des micro-organismes. Le mécanisme ciblé par l'antibiotique est le plus souvent spécifique des bactéries. Chaque famille d'antibiotique est dotée d'actions qui lui sont propres (Page *et al.*; 1999, Nauciel et Vildé; 2008).

On distingue quatre grands modes d'action d'antibiotiques :

- Action sur la synthèse de la paroi bactérienne.
- Action sur la synthèse protéique.
- Action sur la synthèse des acides nucléiques.

- Action inhibitrice sur la membrane cytoplasmique (Alami et al; 2005).

VI.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi qui contient en particulier une couche de peptidoglycane plus ou moins épaisse; un polymère spécifique comportant des acides aminés et des sucres. C'est ce peptidoglycane présent dans la paroi qui contribue à la solidité mécanique de la bactérie. Les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane bloquent les différentes étapes de cette synthèse, ayant ainsi un effet létal pour la bactérie (bactéricide) (Nauciel et Vildé; 2008).

VI.1.1. β -Lactamines

Elles ont en commun un noyau β -Lactame. Leur action sur la synthèse du peptidoglycane consiste en leur fixation suivie par l'inhibition des protéines liant la pénicilline (PLP); ce sont des protéines membranaires appartenant à la bactérie (une bactérie contient plusieurs variétés de PLP). L'activité enzymatique des PLP est inhibée par leur liaison avec les β -Lactamines. On obtient ainsi des formes bizarroïdes (rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la lyse bactérienne (Nauciel et Vildé, 2008).

VI.1.2. Glycopeptides

Ces molécules se lient au dipeptide terminal D-ala-D-ala (précurseur du peptidoglycane) qui normalement est intégré dans le PG. Le glycopeptide empêche cette intégration par blocage de la polymérisation du PG entraînant secondairement l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et ainsi la mort de la bactérie (Alam *et al.*, 2005; Nauciel et Vildé, 2008 ; Chomarat, 2012).

VI.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes. L'élément central de ce processus dans lequel l'ARN messager est traduit en protéine est le ribosome, l'organe cellulaire qui est responsable de cette étape. Il existe un grand nombre de molécules antibiotiques qui sont capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries. De ce fait, approximativement la moitié des antibiotiques utilisés en thérapeutique ont pour cible le ribosome bactérien.

La grande majorité de ces antibiotiques est bactériostatique, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides (Page *et al.*, 1999; Nauciel et Vildé, 2008).

VI.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

VI.2.1.1. Aminosides

Ce sont des antibiotiques ayant une activité bactéricide puissante, une structure commune, un spectre d'activité large, mais une diffusion tissulaire limitée, une toxicité importante et se distinguent par leur capacité à résister aux différentes enzymes pouvant les inactiver (Moulin et Coquerel, 2002; Chomarat, 2012).

Leur mode d'action consiste en leur fixation sur la sous-unité 30S; à concentration subthérapeutique : ils provoquent des erreurs de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines, et à concentration thérapeutique : ils inhibent l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiation (Lavigne, 2007).

VI.2.1.2. Tétracyclines

Inhibent la synthèse protéique en se fixant de façon réversible à la sous-unité 30S des ribosomes et en empêchant l'attachement des Aminoacyl-ARNt au site A du ribosome, et en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique (Lavigne, 2007).

VI.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome

VI.2.2.1. Chloramphénicol

Agissent en se fixant à la sous-unité 50S du ribosome (au site A) empêchant ainsi l'attachement des Amino-acylARNt au site A du ribosome, Ils inhibent également la polymérase (Lavigne 2007 ; Neal, 2007).

VI.2.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines

Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la sous-unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation par leur liaison de façon réversible à la sous-unité 50S des ribosomes (site P) et en inhibant la translocation et la transpeptidation de la chaîne peptidique en croissance (Lavigne 2007 ; Neal, 2007).

VI.2.3. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G

La synthèse protéique serait inhibée par la formation d'un complexe stable avec le facteur d'élongation diphosphate et le ribosome. La phase d'élongation est ainsi bloquée et par voie de conséquence la translocation est arrêtée (Lankovic et Duval, 1997).

VI.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

La synthèse des acides nucléiques, ADN et ARN est absolument vitale pour les cellules bactériennes, sans elle, la division cellulaire et la fabrication des protéines est impossible. Un certain nombre de composés d'antibiotiques peuvent bloquer de manière directe ou indirecte ces voies de biosynthèse des acides nucléiques.

VI.3.1. Sulfamides et triméthopime

Ils inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et par conséquent provoquer son inhibition. Le triméthopime est beaucoup plus utilisé en association avec un sulfamide, en agissant à deux niveaux différents de la synthèse des folates, ce qui leur assure un effet synergique (Nauciel et Vildé, 2008).

VI.3.2. Quinolones

Ce sont des bactéricides, leur mode d'action consiste en l'inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV. Les quinolones altèrent ainsi rapidement la répllication de l'ADN, induisant la mort de la bactérie (Tankovic et Duval, 1997 ; Neal, 2007).

VI.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles

Ils ont le même mode d'action, agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases), ceci en libérant des radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper (Alami *et al.*, 2005 ; Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

VI.4. Antibiotiques agissant sur les membranes

VI.4.1. Les Polymyxines

L'antibiotique le plus utilisé est la colistine. Elle agit sur la membrane cellulaire des bactéries Gram négative en se fixant sur les phospholipides provoquant ainsi une perméabilité membranaire d'où rupture de la barrière osmotique. La bactérie se vide ainsi de ses composants cytoplasmiques vitaux et meurt (GarnachoMontero *et al.*, 2003 ; Alami *et al.*, 2005).

Sous Chapitre II : L'antibiorésistance

I. Introduction

Après plus de 50 ans d'utilisation massive des antibiotiques, nous arrivons maintenant à une période plus délicate, où les bactéries reprennent l'avantage en développant des stratégies de résistance à leurs vis-à-vis, et certains parlent déjà de possible ère post-antibiotique (Alami *et al.*, 2005).

II. Historique

En 1940, avant même que la pénicilline n'ait été largement utilisée en thérapeutique, Abraham et Chain attirent l'attention sur le fait que *Bacterium coli* inactive la pénicilline G en produisant une enzyme dénommée la pénicillinase (Abraham et Chain, 1940). Dès 1945 Fleming s'inquiétait du mauvais. Ensuite, chaque fois qu'a été mise au point une nouvelle substance, les bactéries s'y sont adaptées plus ou moins vite.

III. Définition

Selon Schwarz et Chaslus-Dancla (2001), une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de ce dernier au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou pour la tuer. Cette définition n'attribue pas la résistance seulement au problème microbiologique, mais aussi aux aspects pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et cliniques (Abdennebi, 2006).

IV. Les différents types de résistance

La résistance aux ATB peut être naturelle ou acquise :

IV.1. La résistance naturelle

Elle représente une propriété intrinsèque, c'est une insensibilité aux ATB, existant naturellement chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien, et fait partie de son patrimoine génétique (Yalla *et al.*, 2001 ; Courvalin, 2008). Exemple : *Pseudomonas aeruginosa* n'est jamais sensible à l'ampicilline.

IV.2. La résistance acquise

Résistance qui apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles aux ATB, échappant ainsi à son effet thérapeutique. Elle résulte d'une modification du patrimoine génétique

chromosomique ou plasmidique. Elle ne concerne que quelques souches au sein de l'espèce considérée mais peut s'étendre (Alami *et al.*, 2005 ; Lavigne, 2007 ; Courvalin, 2008).

V. Biochimie de la résistance

V.1. Résistance croisée

La résistance croisée correspond à la résistance à tous les membres d'une classe d'antibiotiques, due à un seul mécanisme de résistance (Courvalin, 2008).

V.2. Co-résistance

Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun confère (par résistance croisée) la résistance à une classe d'antibiotiques, ce qui entraîne in fine un large phénotype résistant de la bactérie hôte (Courvalin, 2008).

VI. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries sollicitent de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance (naturelle ou acquise), associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser. On peut classer les mécanismes de résistance aux antibiotiques en 4 groupes :

VI. 1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Pour être actif l'antibiotique doit arriver intact à sa cible, lorsqu'il y'a modification de l'antibiotique par des enzymes soit par ajout de groupement acétyle, adéninyle ou phosphorique ceci aboutit a son inactivation ou a sa destruction (Abdennebi, 2006 ; Doucet, 2006). Les plus connues sont les β - lactamases, sont des enzymes capables de couper la liaison beta lactame, liaison essentielle à l'activité des pénicillines et des céphalosporines (Kezzal, 1993).

Il existe d'autres enzymes inactivant les aminosides, le chloramphénicol et les macrolides, comme les acétyltransférases, les nucléotidyltransférases, et les phosphotransférases. Le chloramphénicol peut être inactivé par une chloramphénicol-acétyltransférase. Les gènes codant ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (Poyart, 2003).

VI.2. Modification de la cible

La liaison de l'antibiotique à sa cible est inhibée par une reprogrammation ou camouflage de cette dernière. La molécule ne la reconnaît plus et devient inactive. Ce phénomène est dû à des bactéries qui ont la capacité de mutation d'un gène responsable de la biosynthèse de la protéine sur laquelle agit l'antibactérien (Abdennebi, 2006 ; Paquet-Bouchard, 2006).

VI. 3. Diminution de la perméabilité

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles (Nauciel et Vildé, 2008). Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines ou les altérer et de ce fait entraver la pénétration de l'ATB et peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément : β -lactamines, aminosides, et quinolones (Pages, 2004 ; Denyer et Maillard, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

VI. 4. Excrétion par efflux

Autre l'imperméabilité il existe un autre mécanisme qui explique la non accumulation à l'intérieur de la bactérie qui est l'efflux actif. L'antibiotique rentre dans la bactérie mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible il est pris en charge par les protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie, ce système fonctionne avec une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes (Gaudy et Buxeraud, 2005).

VII. Mécanisme génétique de la résistance

La résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes (Courvalin, 2008) :

- 1) Mutations dans le génome. On parlera alors de transmission verticale à la descendance ;
- 2) Acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries, par transfert horizontal.

VIII. Conséquence de la résistance aux antibiotiques

Cette résistance a des conséquences médiatees et immédiates : L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure, diffusion de la résistance, l'apparition de souches multi-résistantes et de bactéries transmises par les aliments et résistantes aux antimicrobiens et qui peuvent causer des infections au sein de groupes de populations sensibles (Abdennebi, 2006).

Sous Chapitre III : Les alternatifs des antibiotiques**I. Introduction**

Les produits dits « alternatifs » qui sont proposés par les scientifiques et les industriels de l'alimentation animale appartiennent à des familles très différentes. En général ces produits permettent une amélioration des performances de croissances mais leur mode d'action n'est pas encore précisément connu, même si beaucoup ont une action sur la flore digestive et son équilibre. Actuellement beaucoup de produits sont proposés aux éleveurs et aux fabricants d'aliments pour remplacer les facteurs de croissances antibiotiques (Beha,2003 ; Devie *et al.*, 2006).

II. Les produits alternatifs aux antibiotiques**II. 1 les acidifiants**

Les acidifiants ou acides organiques (formique, acétique, propionique, tartrique, lactique, citrique, maléique, fumarique, sorbique).

Les acides organiques sous leur forme non dissociée peuvent diffuser passivement à travers la paroi cellulaire des bactéries, s'y dissocier à la faveur d'un pH supérieur à leur constante de dissociation (pK_a) et provoquer une baisse de pH interne (Choct, 2001; Moran, 2005).

Cette baisse du pH interne qui est incompatible avec certaines catégories de bactéries qui ne tolèrent pas un gradient de pH transmembranaire important. Dans ce cas un mécanisme de résistance à ce type de stress cellulaire va se mettre en marche et des protons (H^+) seront pompés hors de la bactérie par une pompe à ATP, ce qui consomme de l'énergie et épuise la bactérie. Pour diffuser hors de la bactérie, les acides organiques doivent aussi être non dissociés, donc en fonction du pH interne, les anions vont s'accumuler, modifier la pression osmotique interne et devenir toxiques pour la bactérie (arrêt de glycolyse, de synthèse d'acides nucléiques, blocage d'enzymes, perturbation du transport membranaire, etc.) (Gauthier, 2002).

Les acides organiques abaissent le pH du contenu du tractus digestif, favorisant ainsi l'activation des enzymes protéolytiques et augmentant le temps de rétention gastrique (Partanen et Mroz, 1999). Ils favorisent également la flore acidophile. L'emploi d'acide

butyrique à 0,4% dans l'alimentation de poulets a permis une amélioration de la conversion alimentaire de 8% (Leeson *et al* , 2005).

II. 2 les prébiotiques

Un prébiotique est un ingrédient alimentaire non digestible qui exerce une action bénéfique pour la santé en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité métabolique d'un nombre limité de microorganismes de l'intestin (Gibson et Roberfroid, 1995) classiquement les *lactobacilles* et les *bifidobactéries*, empêchant ainsi la prolifération d'autres espèces pathogènes.

Par conséquent, un produit sera classé comme prébiotique dès qu'il répond aux trois conditions suivantes : (Suskovic *et al*, 2001 ; Ferket, 2002 ; Fooks et Gibson, 2002 ; Gibson *et al*, 2004).

- être ni hydrolysé, ni absorbé dans le tractus gastro-intestinal.
- être sélectif pour un nombre limité de bactéries endogènes.
- Modifier la microflore intestinale en améliorant sa composition.

Tout ceci doit nécessairement induire une modification de la composition de la flore, améliorant ainsi l'état de la santé de l'hôte. Compte tenu de ces critères particuliers, on constate que la plupart des prébiotiques sont des hydrates de carbones non digestibles pour l'hôte.

On distingue différentes classes de prébiotiques, selon la taille de la molécule ou suivant leur origine, naturelle ou synthétique : (Van immerseel *al*, 2003 ; Gibson *et al*, 2004).

II. 2.1. Les hexoses

Tels que le fructose, glucose, galactose et mannose, et les pentoses tels que le ribose, xylose et arabinose sont les monosaccharides prébiotiques les plus importants. Le galactose est disponible sous forme de disaccharide tel que le lactose. Cependant le monosaccharide le plus couramment utilisé comme prébiotique est certainement le mannose.

II. 2.2. Les disaccharides naturels :

Les plus couramment utilisés sont le sucrose, le lactose et le maltose.

II. 2.3. Les oligosaccharides : (Conway, 2001)

Sont produits la plupart du temps par synthèse ou par hydrolyse enzymatique, soit à partir des hexoses monosaccharidiques, soit à partir de la paroi de cellules microbiennes ou par fermentation de polysaccharides. Parmi les oligosaccharides, les fructo-oligosaccharides (FOS) occupent certainement une place importante. L'administration de FOS dans les aliments pour volaille réduirait la colonisation de l'intestin par campylobacter et les salmonelles (Gibson et Fuller, 2000 ; Van immerseel et al, 2003).

II. 3 les épices et extraits de plantes

Il s'agit principalement de plantes ou d'extrait de plantes, d'épices comme l'ail le thym l'origan et d'huiles essentielles dont les principes actifs sont bénéfiques par leur activité bactéricide. Ils contribuent à améliorer l'appétence des ingrédients (Revington, 2002). Et jouent un rôle dans le contrôle des maladies intestinales. Leurs inconvénients majeurs sont le coût et leur manque de stabilité qui limite leur emploi (Mallet et al, 2003).

II. 4 les argiles

Les argiles renforcent l'efficacité alimentaire et l'hygiène digestive (Devie et al., 2006).

II. 5 les enzymes

L'incorporation d'enzymes digestives dans l'aliment vise à renforcer la digestibilité de certains constituants des matières premières, en particulier les polysaccharides non amylacés qui contribuent à augmenter la viscosité du contenu digestif et par conséquent à réduire la digestibilité de l'aliment (Zhang *et al*, 2000 ; Revington, 2002;., Ferket, 2002 ; Gunal *et al*, 2004).

L'incorporation d'enzymes sous forme d'additifs, ajoutés aux aliments vise à améliorer la digestibilité et la biodisponibilité de certains nutriments dans les aliments composées mais également, de modifier les caractéristiques physiques ou chimiques des excréments favorisant la diminution des cas de nuisances qui y sont associées dans les élevages industriels. Ainsi que de favoriser la réduction des diarrhées.

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

II. 6 les probiotiques

Les souches à activité probiotique sont employées comme alternative aux antibiotiques facteurs de croissance et pour protéger les animaux contre les agents pathogènes.

Ce sont des préparations de microorganismes sélectionnés (bactéries ou levures) apportées régulièrement et en quantité élevée (au moins 10^6 UFC/g d'aliment) dans le régime des animaux afin d'influencer favorablement la microflore digestive. Il y a trois grandes catégories de microorganismes considérés comme des probiotiques à ce jour (Stein et Kil, 2006) : les *Bacillus*, les bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Bifidobactérium* et *Entérocooccus*) et les levures.

Ces préparations ont à la fois des aptitudes nutritionnelles et antimicrobiennes intéressantes : inhibitions des germes potentiellement pathogènes, stimulation du système immunitaire, sécrétion d'enzymes antimicrobiennes ainsi que la régulation de la flore endogène. De nombreuses bactéries utilisées comme probiotique produisent des bactériocines, substances leur conférant un avantage compétitif vis-à-vis de la flore intestinale complexe.

II. 7 les symbiotiques

L'utilisation des symbiotiques est une approche intéressante pour la régulation de la microflore intestinale. Un symbiotique est tout simplement une combinaison d'un probiotique et d'un prébiotique (Schrezenmeir et De Vrese, 2001; Suskovic, 2001; Grajek *et al*, 2005 ; Rastall et Gibson, 2004). L'objectif est d'augmenter la durée de survie du micro-organisme probiotique en lui fournissant un substrat pour sa fermentation. A nouveau cette fermentation permet une production importante d'AGV. Certaines combinaisons symbiotiques ont été bien étudiées, tels que les FOS et les *bifidobactéries*, (Fooks et Gibson, 2002) et le lactitol et les

lactobacilles, et on a vu que les poussins traités avec cette combinaison étaient mieux protégés contre les salmonelles que ceux traités avec les composantes simples (Van immerseel, 2003).

Chapitre IV : les probiotiques et les prébiotiques

Sous chapitre I : Les probiotiques

I. 1. Historique et définition

Le terme "probiotique" est un mot relativement nouveau qui signifie "en faveur de la vie". Le concept probiotique est né de la théorie de la longévité de Metchnikoff en 1907. Les probiotiques ont d'abord été développés dans les années 1960 pour les élevages d'animaux afin de prévenir les infections et stimuler le gain de poids. La première définition officielle a été proposée par Fuller en 1989 qui définit un probiotique comme étant « un supplément alimentaire microbien vivant qui affecte positivement la santé de l'animal en améliorant sa balance microbienne intestinale ». Cette définition a été révisée plusieurs fois par la FAO (Food and Agriculture Organization) et la WHO (World Health Organization) pour arriver en 2001 à la nouvelle définition qui s'énonce comme suit « les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte ».

I. 2. Les microorganismes utilisés comme probiotiques

Les principaux microorganismes probiotiques connus à ce jour sont des bactéries (*Lactobacilles*, *Bifidobactéries*, *Propionibactéries*, *Escherichia coli* et *Entérocoques*) et des levures (*Saccharomyces boulardii*) voir tableau n° 4 (Andrieu, 1995; Gibson et Fuller, 2000; Malinen, 2002 ; Mercenier *et al*, 2002; Herzig *et al*, 2003 ; Cumming *et al*, 2004 ; Anuradha et Rajeshwari, 2005).

Tableau 4 : les principaux microorganismes utilisés comme probiotiques

(Adapté par Coppola et Turnes, 2004)

Bactéries probiotiques			
Lactobacillus	Bifidobactérium	Autres bactéries lactiques	Autres
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus Faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. amylovirus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus Faecium</i>	
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc mesentyeroides</i>	
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Bulgaris</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus</i>	
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Inulinus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. gasseri</i>		<i>Streptococcus termophilus</i>	
<i>L. johnssonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

I .2.1 les bactéries lactiques et leur action probiotique :

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis des siècles pour la conservation et la fabrication d'aliments, notamment des produits laitiers, bien avant que l'on ne connaisse leur existence en tant que telles.

Leur nom générique vient du fait qu'elles ont la propriété de produire de l'acide lactique. Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram-positif qui regroupent 12 genres bactériens dont les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Drouault et Corthier, 2001 ; Salminen et al, 1998). Ces bactéries peuvent avoir

des formes de bâtonnet ou de coque, sont immobiles et ne sporulent pas. Elles ont également un métabolisme aérobie facultatif et ne produisent pas de catalase. Les bactéries lactiques ont en commun la capacité de fermenter les sucres en acide lactique (Sanders, 2001; Fooks et Gibson, 2002). La fermentation est dite homolactique lorsque l'acide lactique est le seul métabolite formé ; elle est qualifiée hétérolactique lorsque d'autres composés (éthanol, dioxyde de carbone, acides organiques volatils) sont produits en plus de l'acide acétique (Sillanpaa, 2001; Fooks et Gibson, 2002; Klaenhammer *et al*, 2002; Beasley, 2004). En effet, la production d'acide lactique réduit le PH permettant la prévention de la croissance de microorganismes pathogènes (Durlu- Ozkaya *et al*.,2001), réduisant à son tour les dommages pouvant être causés par une telle prolifération.

Les bactéries lactiques possèdent des propriétés antitumorales qui pourraient être dues à :

(Sanders, 1999 ; Brady et al, 2000; Salminen, 2001; Chukeatirote, 2003).

- L'inactivation ou l'inhibition des composées carcinogènes dans le tractus gastro-intestinal.
- A la stimulation de la réponse immunitaire.
- A la réduction des activités enzymatiques des bactéries intestinales telles que la β -glucuronidase, l'azoréductase et la nitroréductase qui convertissent des précarcinogènes en carcinogènes. Les *Lactobacillus* retarderaient, par exemple chez le rat, la formation de tumeur du colon (Suvarna et Boby, 2005).

I .2.2 Les bifidobactéries et leur action probiotique :

Les bifidobactéries sont des bâtonnets aux formes variées dont la plus caractéristique est une forme en Y. Les bifidobactéries sont non sporulées, à Gram-positif, hétérofermentaires, anaérobies strictes, ils dégradent les hexoses et produisent de l'acide lactique et de l'acide acétique

leurs conditions optimales de croissances se situent à des températures de 37 et 41 °C (Scardovi,1986 ; Martin et Chou , 1992) et à des PH compris entre 6,5 et (collins et hall., 1984 ; Scardovi 1986) 7,0. Ces bactéries produisent de petites quantités d'acide formique, d'éthanol et d'acide succinique. Toutes les souches accumulent le peroxyde d'hydrogène qui est réduit par le NADH peroxydase.

Les enzymes intracellulaires de *Bifidobactérium* pourraient également dégrader les sites d'adhésion spécifiques des bactéries pathogènes ou de leurs toxines. Quelques souches sont capables de résister à l'acidité gastrique. Les bifidobactéries influencent la maturation et le cycle de développement des entérocytes. Ils sont impliqués dans le remplacement des mucines intestinales et auraient une action immunogène.

Les bifidobactéries sont généralement sensibles aux antibiotiques du spectre gram positif (macrolides, erythromycines..etc) mais aussi aux beta-lactamines (Delagdo *et al.*, 2005 ; Moubarek *et al.*, 2005 ; Zhou *et al.*, 2005 ; Masco *et al.*, 2006 ; Ammor *et al.*, 2007), cependant beaucoup d'espèces d'entre eux sont résistantes aux antibiotiques du spectre gram négatif (acide nalidixique, polymixine) (Charteris *et al.*, 1998 ; Delagdo *et al.*, 2005 ; Moubarek *et al.*, 2005 ; Zhou *et al.*, 2005 ; Masco *et al.*, 2006 ; Ammor *et al.*, 2007).

Les bifidobactéries sont capables de produire des vitamines tels que la thiamine(B1), l'acide folique (B9), et l'acide nicotinique (Tamura., 1983 ; Deguchi *et al.*, 1985) ils apportent également des acides aminés (alanine, valine, acide aspartique et thréonine).

I .2.3. Les bactéries non lactiques

D'autres bactéries, dont le métabolisme est différent des précédentes, font également preuve d'intérêt en tant que probiotiques. Il s'agit notamment de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917 et de bactéries sporulées dont *Bacillus subtilis*.

I .2.4. Les levures et leur utilisation comme probiotique

Les levures sont des champignons chez lesquels la forme unicellulaire est prédominante. Les cellules végétatives peuvent être sphériques, ovoïdes, allongées, cylindriques, apiculées, ogivales ou en forme de citron. La taille cellulaire varie de 2-3 µm de long à 20-50 µm. la largeur des cellules est de 1 à 10 µm. Le mode de reproduction végétative le plus courant chez les levures est le bourgeonnement.

Depuis de nombreuses années, les levures sont également utilisées en additifs alimentaires chez les animaux pour améliorer les performances zootechniques et comme régulateur du microbiote intestinal chez l'homme. Les levures utilisées comme probiotiques sont des souches de *Saccharomyces cerevisiae*. Une souche bien déterminée de cette levure est dénommée *Saccharomyces boulardii* (Rolfe, 2000; Toma et al, 2005).

Depuis les années 1970, de nombreux travaux de recherche ont été effectués sur *Saccharomyces boulardii*. Ils ont permis à cette levure d'évoluer d'une observation clinique à la démonstration de ses multiples propriétés biologiques et de ses mécanismes d'actions. Ceux-ci mettent en jeu :

- Des effets trophiques, anti-sécrétoires et anti-inflammatoires sur la muqueuse intestinale ;
- Une stimulation du système immunitaire de l'hôte, notamment la stimulation de la production d'IgAs et la modulation de la signalisation cellulaire de l'hôte ;
- Des effets spécifiques sur les bactéries entéropathogènes, en particulier par son activité protéolytique et par l'inhibition de l'adhérence bactérienne aux cellules épithéliales. En plus de ses effets, cette levure se caractérise par sa capacité de résistance à la température et au pH acide de l'estomac. Le concept de microorganisme probiotique s'applique ainsi parfaitement à *Saccharomyces boulardii*.

I. 3. Critères de sélection des souches probiotiques

La majorité des définitions insistent sur le fait que les microorganismes probiotiques doivent obligatoirement rester en vie durant leur passage dans le tractus digestif afin de parvenir aux sites d'actions et ainsi exercer leurs effets. Plusieurs critères majeurs de sélection ont été établis par différents auteurs dans le but de sélectionner les souches potentiellement probiotiques, ces critères sont résumés dans le tableau n° 5

Tableau 5 : Principaux critères de sélection des probiotiques. Adapté de (Klaenhammer and Kullen 1999; Saarela, Mogensen *et al.* 2000; Ouwehand, Salminen *et al.* 2002; Gueimonde and Salminen 2006)

Critères de sécurité	Critères fonctionnels	Critères technologiques
Identification taxonomique précise.	Tolérance de l'acidité à la bile et aux enzymes digestives	Stabilité au cours des procédés de fabrication et dans le produit fini
Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques.	Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus intestinal	
Historique de non pathogénicité et non-invasion de l'épithélium intestinal.	Production de substances antimicrobiennes (bactéricines, acides organiques, peroxyde d'hydrogène) ou autres composés inhibiteurs et antagonismes envers les pathogènes	Non modification des qualités organoleptiques du produit fini
Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques	Immunomodulation	
	Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte	

Parmi les critères cités auparavant le choix des microorganismes est très important

I. 3. 1. Choix des microorganismes

C'est une étape essentielle, les microorganismes utilisés comme probiotiques doivent être exempt de toute pathogénicité (Suvama et Boby, 2005. Anuradha et Rajeshwari, 2005). Cependant ce genre de risque est pratiquement inexistant du fait que les microorganismes probiotiques ont trouvé de nombreuses applications dans l'industrie agroalimentaire (ces souches sont incorporées dans les yaourts, les produits lactés, les

boissons, les fromages, les desserts réfrigérés et même le lait non fermenté) et ne présentent aucun danger pour l'homme, les animaux ou l'environnement (Klaenhammer, 2002; Chukeatirote, 2003; Bouziane et al, 2004 ; Nowroozi et al, 2004).

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

Les bactéries étant administrées par voie orale, il est nécessaire qu'elles franchissent les obstacles majeurs du transit digestif afin de parvenir vivantes aux sites de leur action à savoir l'intestin, et donc être efficace.

Pour cela elles doivent résister aux enzymes présentes dans la cavité buccale dont la principale est le lysozyme, au pH acide de l'estomac dû à la présence de forte concentration d'acide chlorhydrique, aux sucs pancréatiques et aux concentrations de bile et de mucus présentes dans l'intestin grêle (Percival, 1997; Malinen, 2002).

Les résultats des essais indiquent que diverses souches de lactobacilles, notamment : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* I23, *Lactobacillus fermentum* I 24, *Lactobacillus fermentum* I 24 et *Lactobacillus sp* peuvent montrer une tolérance aux sucs gastriques et biliaires (Jin *et al*, 1998; Chou et Weimer, 1999; Brizuela *et al*, 2001; Pereira *et al*, 2003).

I. 3.3. Adhésion aux cellules intestinales et/ou au mucus

I. 3.3.1 Adhésion aux cellules intestinales

La capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale est considérée comme une condition préalable à la colonisation et la croissance, ce qui explique l'importance de ce critère pour la sélection des microorganismes probiotiques.

L'adhésion permet d'augmenter le temps de rétention des probiotiques dans l'intestin pour mieux résister aux mouvements péristaltiques intestinaux. Il est généralement admis que l'effet probiotique aura d'autant plus de chance d'être maximal que le microorganisme vivant séjournera longtemps dans le tube digestif (Tortora G., Derrickson B., 2007).

L'adhésion des probiotiques au tractus digestif est spécifique à la souche et plusieurs organismes probiotiques, selon les diverses méthodes utilisées, semblent aptes à démontrer de bonnes propriétés adhésives toutefois, les résultats des tests *in vivo* sur l'adhésion des bactéries aux cellules sont encore controversés par rapport aux tests *in vitro*. Il semblerait

d'après les travaux de Sanna *et al* (2002), les *Lactobacillus* (*L.crispatus* ST1, *L. reuteri* CT7; *L. gasseri* CT5) présentent une meilleure affinité aux cellules du jabot.

Ainsi selon plusieurs études pharmacocinétiques cliniques, il semble que la culture probiotique doit être continuellement ingérée pour qu'un effet probiotique exogène continu soit obtenu du fait de leur inaptitude à coloniser de façon permanente le tube digestif des animaux (Gournier *et al.*, 1994).

Gusils *et al.* (2002) ont confirmé l'existence de différents déterminants de surface qui pourraient être impliqués dans les interactions entre des lactobacilles (*Lactobacillus animalis*, *L.fermentum*, *L.fermentum spp. Cellobiosus*) et les cellules épithéliales intestinales. En effet, l'adhésion serait importante pour l'immunomodulation car les probiotiques adhérents sont en contact direct avec les cellules immunes épithéliales. De plus, l'adhésion des probiotiques permettrait de prévenir l'implantation de pathogènes sur les cellules épithéliales intestinales par des mécanismes de compétition (Izquierdo Alegre. 2009).

I. 3.3.2 Colonisation

La possibilité d'une colonisation durable de l'écosystème intestinal par un microorganisme probiotique qui correspond au maintien à un niveau constant et au développement local de celui-ci sans qu'une ré-inoculation périodique ne soit nécessaire est considérée comme conceptuellement impossible du fait d'un grand déséquilibre de force en faveur des microorganismes du microbiote autochtone, quantitativement plus abondants (Roy D.,2006)

Les probiotiques colonisent donc temporairement le tractus digestif et font ainsi partie du microbiote allochtone.

I. 3.4. Activités antimicrobiennes

Les bactéries probiotiques doivent essentiellement jouer deux rôles au niveau du tractus digestif : améliorer la digestibilité de la ration alimentaire et maintenir de bonnes conditions sanitaires. L'activité antimicrobienne des lactobacilles (*Lactobacillus acidophilus*, *L.plantarum et L. brevis*) et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 a été prouvé in vitro contre deux pathogènes entériques : *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* (El-Nagger, 2004).

L'effet inhibiteur de *Lactobacillus fermentum* sur *E. coli*, *S. typhimurium* et *S. aureus* avait été démontré (Reque *al*, 2000).

Il est donc important que ces bactéries soient capables d'inhiber le développement des germes indésirables :

- soit par la production de substances antagonistes de type bactériocines ou autres tels que les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène (Gusils *et al*, 2002 ; Lima *et al*, 2005; Lam *et al*, 2005).
- soit en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale ; selon Hariharan et al (2004) l'emploi des probiotiques réduit la colonisation du tractus digestifs par les *C jejuni*, Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer ces activités. Ces mécanismes sont résumés dans la figure 2

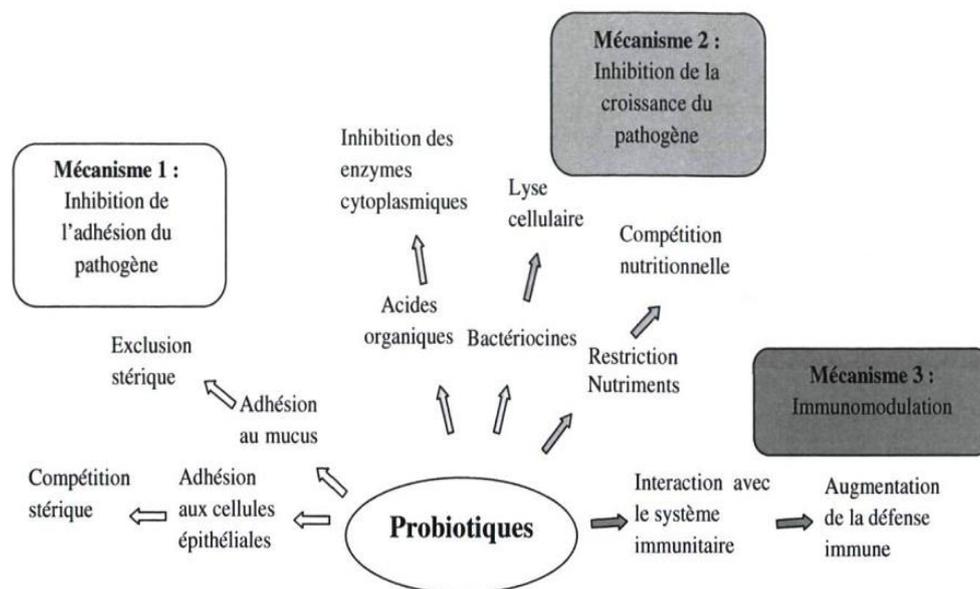


Figure 2 : Mécanismes d'action proposés des microorganismes probiotiques dans le traitement des infections entériques. Adapté de Kaur, Kuhad *et al.* (2009) et Calder and Kew (2002).

La production de substances inhibitrices telles que les bactériocines se révèle d'intérêt majeur dans le domaine des probiotiques

🚩 Définition des bactériocines

D'après Tagg, Dajani *et al.*, 1976 le terme bactériocines est l'ensemble des peptides antimicrobiens produits par les bactéries (Gram positif et négatif), qui sont des peptides antimicrobien de faible poids moléculaire. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice. Leur spectre d'action est généralement étroit. Les

bactériocines représentent une arme importante dans les phénomènes de compétitions bactériennes car elles aident la bactérie productrice à se défendre contre les autres bactéries de son environnement. À cette époque, les bactériocines étaient encore définies comme des substances ayant un spectre d'action limité. En 1963, Hamon and Peron (1963) ont observé que certaines bactériocines produites par les bactéries à Gram positif pouvaient avoir un spectre d'activité étendu. Aujourd'hui, il est généralement accepté que la majorité de ces peptides sont cationiques, hydrophobes, qu'ils sont sensibles aux proteases et qu'ils présentent une activité maximale à pH acide (Ennahar, Deschamps et al. 2000).

Certaines bactériocines tirent leur nom de la souche productrice, d'autres ont été nommées en termes généraux, par exemple les "colicines" produites par les coliformes, ou les "lactostrepcines" produites par les streptocoques lactiques (Kozak, Bardowski et al. 1978; Kleanhammer 1988; Ecker 1992). Les bactériocines ont en effet une activité bactéricide ou bactériostatique qui affecte, dans la plupart des cas, des bactéries taxonomiquement proches de l'organisme producteur.

I. 3.5. Viabilité et stabilité des microorganismes

Pour que les probiotiques puissent exprimer ces diverses potentialités, il faut qu'ils atteignent leur site d'activité digestive dans les conditions les plus propices à leur efficacité, il est donc impératif de conserver ces souches vivantes durant les traitements technologiques de production soit par enrobage ou par micro-encapsulation (Conway,1996 ;Percival,1999 ;Casas et Dobrogosz,2000 ; Kleanhammer,2000 ;Suskovic *et al.*, 2000).

Des études sont nécessaires pour déterminer la durée de viabilité des souches probiotiques au cours du processus de fabrication afin de déterminer la date limite d'utilisation sans diminuer ou encore perdre leurs propriétés (Saarela *et al.* , 2000).

I. 3.6. Résistance aux additifs alimentaires et aux antibiotiques

Il est recommandé d'étudier la tolérance des souches aux additifs alimentaires et aux principaux antibiotiques thérapeutiques utilisés en élevage pour pouvoir déterminer la possibilité d'effectuer une antibiothérapie en même temps que l'administration du probiotique (Gournier et al., 1994).

I. 4. Mécanisme de lutte contre les pathogènes

De façon générale, l'efficacité des probiotiques est liée à leur durée de présence dans le tube digestif et à la capacité de le coloniser (Netherwood *et al.*, 1999 ; Rolfe, 2000 ; Guillot, 2001 ; Simon, 2005) ceci dit leur mode d'action reste encore imparfaitement élucidé, globalement Les bactéries probiotiques ont le potentiel d'améliorer la santé gastro-intestinale de l'hôte et plus particulièrement la digestion en renforçant l'écosystème microbien vu que la flore intestinale reste la cible majeure (Gournier *et al.*, 1994). Ces derniers en exerçant soit :

- a) un effet prophylactique (antagonisme contre certains pathogènes par production de substances antimicrobiennes ; compétition avec les pathogènes pour certains nutriments ou pour les récepteurs de la muqueuse intestinale),
- b) et/ou un effet nutritionnel (augmentation de la digestibilité, production de nutriments favorables),
- c) et/ou un effet de détoxification (moindre production d'ammoniac, d'amines, ou de cytotoxines).
- d) certains effets d'activation du système immunitaire et la modification de la structure et les fonctions de l'épithélium intestinal ont également été démontrés.

Ces effets bénéfiques dus à l'administration de probiotiques pourraient s'expliquer par plusieurs mécanismes

I. 4.1. Modulation du microbiote intestinale

Les bactéries probiotiques n'ont pas la capacité de coloniser de façon permanente le tractus gastro-intestinal. Par contre, la consommation sur une base régulière permet de modifier la microflore intestinale et d'atteindre un équilibre entre les mauvaises bactéries et les microorganismes bénéfiques. Différentes propriétés antagonistes des probiotiques sont impliquées pour inhiber les microorganismes pathogènes :

- Production de substances antimicrobiennes, en particulier des bactériocines
- Acidification du contenu via la sécrétion d'acides organiques
- Compétition pour les sites d'adhérence
- Compétition pour les nutriments (Sherman *et al.*, 2009) et (Parad *et al.*, 2007).

I. 4.1.1. Production de bactériocines

Les probiotiques sont capables d'exercer un effet antimicrobien direct en produisant des molécules inhibitrices bactéricides ou bactériostatiques. Il s'agit notamment des bactériocines. Les bactériocines sont des molécules de nature protéique synthétisées par voie ribosomique possédant des propriétés antibiotiques. Il en existe différents types. Elles agissent principalement sur la membrane cellulaire des pathogènes : elles se fixent à certains récepteurs membranaires des bactéries, formant ainsi des pores qui rendent la membrane cytoplasmique perméable et qui mènent à la libération du contenu intracellulaire et donc la mort de la bactérie affectée. Les bactériocines ont un spectre d'action relativement étroit. L'activité bactéricide ou bactériostatique est essentiellement dirigée contre des espèces taxonomiquement proches de la souche productrice (Kheadr *et al.*, 2010 ; Morisset *et al.*, 2005).

Les lactobacilles sont souvent associés à la production de bactériocines. Il a par exemple été démontré *in vivo* que *Lactobacillus salivarius* produit une bactériocine dirigée contre *Listeria monocytogenes*. La production de bactériocines par les souches de bifidobactéries est moins documentée (Dortu *et al.*, 2009).

I. 4.1.2. Diminution du pH intra-luminal intestinal

Les acides organiques produits tels que le (lactate, l'acétate, le propionate) essentiellement par les souches lactobacilles, abaissent le pH intra- luminal ce qui permet d'inhiber l'activité des bactéries acidosensibles (Gram négatives) comme les *Escherichia coli* et les salmonelles ce qui limite leur développement. De plus, l'acidification favoriserait le péristaltisme et la motricité intestinale ce qui raccourcit le transit des micro-organismes pathogènes dans l'intestin d'où réduction de leur croissance (Chafai, 2006).

I.4.1.3. Inhibition compétitive de l'adhésion des pathogènes

L'interaction des probiotiques avec l'épithélium intestinal est essentielle pour bloquer l'adhésion des pathogènes, en se fixant sur les mêmes sites récepteurs. Plusieurs souches de lactobacilles et de bifidobactéries sont en mesure de rivaliser avec des bactéries pathogènes.

Les mécanismes de compétition de l'adhésion se font généralement de deux façons. Ils peuvent survenir de façon spécifique par l'intermédiaire des adhésines, ou de façon non

spécifique en impliquant des interactions électrostatiques ou hydrophobes (Servin et Coconnier, 2003).

I. 4.1.4. Compétition au niveau de l'utilisation des nutriments

L'inhibition de la croissance des pathogènes peut également s'effectuer par un processus de restriction des nutriments. Les probiotiques entrent en compétition avec les pathogènes en utilisant les mêmes substrats présents dans la lumière intestinale. La diminution des substrats disponibles rend l'environnement peu favorable à la croissance des pathogènes (Wealleans *et al.*, 2010 ; Delcenserie *et al.*., 2008).

I. 4.2. Par accumulation de métabolites

Certaines souches utilisées comme probiotiques possèdent la capacité de deconjuguer les sels biliaires : les formes déconjuguées ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries que les formes conjuguées (Bezkorovany, 2001 ; Marteau, 2000).

I. 4.3. Neutralisation des produits toxiques

Les probiotiques interviennent très certainement dans la neutralisation des produits toxiques. Ils provoqueraient une atténuation du catabolisme intradigestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniac, amines et indoles) et diminuer les bio transformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques. Les bactéries probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser in situ certaines toxines bactériennes (Percival, 1997 ; Schrezenmeir et De Vrese, 2001; Kung, 2001).

I. 4.4. Immunomodulation

Pour assurer la protection de l'hôte contre l'invasion d'organismes nocifs, les propriétés fonctionnelles de la muqueuse doivent être optimales. L'optimisation de ces fonctions est assurée par des mécanismes non spécifiques incluant, entre autres, la microflore intestinale et la production de molécules, soit par des bactéries désirables ou par l'hôte, qui contrôlent la croissance des bactéries et leur adhérence à la muqueuse intestinale. Les organismes probiotiques produisent plusieurs composés qui peuvent influencer le système immunitaire de l'hôte comme des composantes de la paroi, et différents métabolites. Tout comme ceux produits par les bactéries pathogènes, ces produits sont reconnus par le système immunitaire comme étant nuisibles ce qui engendre une réponse immune. Cependant, contrairement à la

réponse provoquée par les pathogènes, la présence des probiotiques provoque l'activation de lymphocytes T et B, mais ne cause pas d'inflammation ou d'infiltration des neutrophiles.

Tout comme la flore résidente, les probiotiques peuvent interférer avec le système immunitaire de l'hôte. Ils transitent dans la lumière intestinale et sont normalement séparés du système immunitaire local par la barrière épithéliale. Ils peuvent communiquer avec les cellules de la lamina propria soit indirectement en envoyant des signaux (cytokines) via les entérocytes, soit directement par contact, en cas de translocation vers la lamina propria et les ganglions mésentériques. Ce phénomène de translocation est minime en condition normale (Sanders, 1999; Chandra, 2004 ; Mercenier *et al*, 2002; Isolauri et al, 2001 ; O'Sullivan *et al.*, Anuradha et Rajeshwari, 2005). Les probiotiques peuvent aussi libérer des composés dans la lumière intestinale, qui sont susceptibles d'être absorbés par l'épithélium intestinal et d'agir sur les cellules immunitaires.

I.4.4.1. Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes de défense non spécifiques

Les probiotiques stimuleraient l'activation des macrophages. (Herich et Levkut, 2002), La phagocytose étant réalisée essentiellement par les macrophages est le principal mécanisme de défense non spécifique de l'organisme en réponse à la pénétration d'une substance étrangère. L'état d'activation des macrophages est donc une mesure de la réponse immunitaire naturelle de l'hôte. Selon (Schriffin et al, 1995; cité par Salminen et al, 1998). L'administration orale de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum* active les macrophages.

I.4.4.2. Effet sur les cellules impliquées dans les mécanismes de réponse immunitaires spécifiques

Le système immunitaire spécifique comprend deux systèmes : l'immunité humorale qui agit par l'intermédiaire des lymphocytes B producteurs d'anticorps protecteurs, et l'immunité à médiation cellulaire qui agit par l'intermédiaire des lymphocytes T, Les deux systèmes communiquent entre eux par l'intermédiaire de substances chimiques telles que les interleukines.

L'augmentation de la réponse immunitaire spécifique provoquée par les probiotiques se traduit par une activation des lymphocytes T et B, provoquant une augmentation du taux d'interleukines et des anticorps circulants (IgM et IgG) et augmente les IgA à la surface de la

paroi intestinale (Corpet, 2000 ; Mercenier *et al*, 2002; Herich. et Levkut, 2002; O'Sullivan *et al*, 2005).

De nombreuses études ont démontré que la colonisation bactérienne influence le développement des fonctions immunitaires intestinales et systémique ; Un effet bénéfique de bactéries lactiques et tout particulièrement du mélange probiotique qui contient des (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Candida pintolepesii*, *Aspergillus oryzae*), a été observé pour l'amélioration de la réponse immunitaire chez les oiseaux vaccinés contre la grippe aviaire (Ghafoor *et al.*, 2005).

I.4.4.3. Effet sur le système immunitaire sécrétoire

La présence des micro-organismes probiotiques, favorise la production des IgA sécrétoires dans la lumière intestinale. Directement en contact avec l'antigène présent dans le contenu digestif les IgA sont importantes dans le tractus digestif ; elles font partie, comme au niveau des appareils respiratoire et génital, des premières défenses de l'organisme contre l'infection. Les IgA peuvent inhiber l'adhésion des bactéries pathogènes à la surface des muqueuses (Sanders, 1999 ; Isolauri *et al*, 2001) :

- En agglutinant les bactéries.
- En se fixant sur les adhésines qui sont les facteurs d'adhésion présente à la surface des bactéries.
- En interférant avec les interactions adhésines/récepteurs cellulaires.

I. 5. Les probiotiques en aviculture

L'emploi commercial de probiotiques en élevages industriels des volailles est relativement nouveau. Comme pour les autres animaux, leur utilisation s'est développée à la suite des recherches effectuées sur le tractus gastro-intestinal qui ont permis une meilleure compréhension du rôle de la microflore et de son importance sur la santé et l'hygiène digestive des animaux.

I. 5.1. Efficacité sanitaire

Les probiotiques exercent des activités antibactériennes contre diverses bactéries pathogènes et notamment contre les microorganismes fréquemment responsable d'infection chez les poulets : *Salmonella sp*, *Compylobacter*, *Escherichia coli*. (Van immerseel et al, 2002 ; Van immerseel et al, 2005).

De nombreuses expériences confirment les effets des souches probiotiques, notamment les *Lactobacillus* contre les souches d'*Escherichia coli* et *Salmonella*

Selon (zacconi *et al*, 1999) l'administration de *Lactobacillus salivarius* A23 à des poussins nouvellement éclos permet d'augmenter le poids et de diminuer le taux des pathogènes (coliformes) et augmenter le taux des lactobacilles dans le jabot dès le premier jour d'administration. Par contre, aucune diminution significative n'a été observée au niveau du cæcum. Ceci signifie que le probiotique agit essentiellement au niveau de jabot.

D'autres bactéries que les lactobacilles ont un effet probiotique .Tel est le cas d'*Enterococcus faecium* souche J96 isolé de l'intestin d'une poule. Cette souche réduit le taux de croissance de *Salmonella Pullorum*, *Gallinarum*, *Typhimurium* et *Enteritidis* in vitro. L'administration de 109UFC de cette souche à des poussins de 30 h leurs permet de survivre à un challenge 24 h plus tard avec 105UFC de *Salmonella Pullorum* (Audisio *et al*, 2000 cité parVan immerseel, 2003).

Les travaux d'Andreatti Filho *et al* (2000) il Ya protection des animaux contre les infections causées par des souches de *Salmonella Typhimurium* et *S.Enteritidis* après l'administration de la flore caecale.

Ces expériences montrent qu'il serait possible de réaliser, dès l'éclosion chez des poussins, une colonisation dirigée du tube digestif des animaux avec des souches probiotiques à fort pouvoir inhibiteur plutôt que de laisser s'installer naturellement une flore lactique quelconque apportée par l'environnement.

I. 5.2. Efficacité zootechnique

En aviculture, l'efficacité zootechnique revendiquée des probiotiques passerait par l'amélioration de la croissance (GMQ), de l'indice de consommation (IC), et de l'état sanitaire voire du bien être des animaux établis par la réduction de la fréquence des diarrhées ou de la mortalité durant certaines phases critiques d'élevage: stress alimentaires (changement de régime alimentaire, rations riches en concentré), stress sanitaires (densité des animaux...).

En matière de productivité, les données publiées font apparaître une variabilité importante de la réponse animale pour le GMQ et pour l'IC, la réponse relative étant d'autant plus marquée que les conditions nutritionnelles et sanitaires sont médiocres (Edens, 2003).

Une telle variabilité en pratique n'est pas surprenante car l'action supposée passe par la modification de l'écosystème intestinal qui peut largement différer d'un essai à l'autre en fonction des microorganismes utilisés (souches) ainsi qu'à leur concentration dans l'aliment, de l'interaction des probiotiques avec certains composants de l'aliment, de l'âge des animaux (les plus jeunes présentant des flores digestives moins stables que celle des adultes et une immunité moins établie), et de leur état nutritionnel et sanitaire.

Ceci est appuyé par les travaux suivants :

- L'administration d'une souche d' *Enterococcus faecium* M-74, à des poussins durant 06 semaines améliore les performances zootechniques des animaux par rapport au groupe témoin : le poids final est de 2168.25 g et un IC est de 2.02 pour le lot traité contre 1956.10 g et 2.16 pour le lot témoin ($P < 0.01$) (Ivanković et al, 1999).
- Yeo et Kim (1997) démontrent que la supplémentation alimentaire en *Lactobacillus casei* permet d'augmenter le gain de poids des poulets durant les 3 premières semaines d'âge comparativement aux témoins.
- D'autres paramètres nutritionnels tel que l'activité des enzymes amylases sont également améliorés en présence des *Lactobacillus*. (Jin et al, 2000).
- Un essai de supplémentation par la levure *Saccharomyces cerevisiae* a été conduit sur des poussins (4.10^8 UFC), la mortalité a été significativement diminuée dans le lot traité (Karaoglu et Dardug, 2005).

Sous chapitre II : Les prébiotiques

II. 1. Symbiotiques et Métabiotiques

Les symbiotiques désignent une combinaison appropriée de probiotiques et de prébiotiques. Un produit symbiotique exerce un effet pré et probiotique. L'objectif de cette combinaison est de favoriser la survie et l'implantation du probiotique au niveau de l'intestin, il est par conséquent nécessaire d'adapter le prébiotique au probiotique utilisé afin de lui fournir les conditions les plus favorables possibles.

Les métabiotiques quant à eux sont les métabolites produits par les bactéries probiotiques, c'est le cas de *Bacillus subtilis* qui produit un antibiotique (amicoumacin A) qui inhibe la prolifération de *Helicobacter pylori* (Pinchuk *et al.*,2001).

II. 2. Définition des prébiotiques

Les prébiotiques ont été définis comme « des ingrédients alimentaires non digestibles affectant l'organisme hôte de manière bénéfique en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité d'espèces bactériennes déjà présentes dans le côlon, et, de ce fait, capables d'améliorer la santé de l'hôte ». Bien que, à ce jour, les prébiotiques les plus étudiés demeurent les fructanes (l'inuline et ses dérivés les fructooligosaccharides(FOS) et les galactooligosaccharides (GOS), il existe une multitude de molécules considérées comme prébiotiques potentiels: des xylooligosaccharides (XOS), des oligosaccharides de soja (SOS), de l'amidon résistant à la digestion, etc. (tableau 6). La très grande majorité de ces molécules sont des fibres ou des oligosaccharides, qui sont métabolisés par les bactéries et induisent la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) dont les principaux représentants sont l'acétate, le propionate et le butyrate.

Tableau n° 6 : les principaux prébiotiques commercialisés selon (Grizard and Bartheumeuf ,1999, Franck,2002).

Prébiotique	Nom	Structure	Fournisseur
Oligofructoses	Raftilose	Fru-Fru ₂ + Glc-Fru ₂	Orafti (Belgique)
Fructooligosaccharides	Actilight	Glc- Fru ₂	Beghin Meiji (France)
Galactooligosaccharides	Oligomate	Glc- Gal ₂	Yakult (japon)
Lactulose	MLS- 50	Gal-Fru	Morinaga 5 (Japon)
Oligosaccharides de soja	Soy-oligo	Gal ₂ -Glc-Fru	Calpis (Japon)
Isomaltooligosaccharides	IMO 900	Glc ₂	Showa Sangyo (Japon)
Glucooligosaccharides	Bioecolia	Glc ₂	Solabia (France)
Mannooligosaccharides	Bio- MOS	Man ₂	Alltech biotechnology (USA)
Xylooligosaccharides	Wylo- oligo	Xyl ₂	Suntory (Japon)

II. 3. Propriétés immunomodulatrices des prébiotiques

Les prébiotiques peuvent exercer un effet sur la barrière intestinale et le système immunitaire associé à l'intestin via les AGCC produits par le microbiote. Le butyrate est le plus étudié des AGCC. Il a été identifié comme un modulateur de l'acétylation de la queue des histones, et, par conséquent, il peut augmenter l'accessibilité de nombreux gènes à des facteurs de transcription (Dangond F *et al.*, 1998). Les effets transcriptionnels du butyrate ont été étudiés tant *in vitro* sur différentes cellules du système immunitaire et de l'épithélium intestinal (Vinolo MA *et al.*, 2009) qu'*in vivo* chez l'homme (Vanhoutvin SA *et al.*, 2009). Le butyrate est produit par les genres *Clostridium*, *Eubacterium* et *Ruminococcus*, tandis que d'autres AGCC tels que l'acétate ou le propionate sont produits par des bactéries lactiques des genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*. Ces 2 derniers AGCC jouent également un rôle clé dans la régulation de l'expression des gènes du système immunitaire. Des effets directs des prébiotiques ont néanmoins été décrits: on sait notamment que le GOS peut limiter la fixation de certaines bactéries aux cellules épithéliales en se liant aux récepteurs d'adhésion de ces microorganismes (Shoaf K *et al.*, 2006). D'autres effets directs des prébiotiques sur la physiologie intestinale sont, à l'heure actuelle, fortement supposés, mais le mécanisme sous-jacent demeure inconnu. Les chercheurs de l'Institut national de la recherche agronomique (Inra) de Nantes ont par exemple récemment démontré que les prébiotiques (GOS et inuline) agissaient sur le développement et probablement sur le métabolisme énergétique du souriceau *in utero* ou pendant la lactation, voire sur le comportement maternel (Desbuard N *et al.*, 2011).

II. 4. Critères de sélection des prébiotiques

Les molécules prébiotiques doivent pouvoir atteindre leurs sites d'actions intactes ou elles pourront alors être fermentées sélectivement dans l'écosystème intestinal complexe, les candidats prébiotiques doivent être sélectionnés selon les différents critères décrits dans le tableau 7 ci-dessous.

Tableau 7 : Proposition de critères de sélection des prébiotiques à application intestinale
(selon Mattila_ Sandholm *et al.*, 1999 ; Saarela *et al.*, 2000)

Critères	Caractéristiques
Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> • Produits ou organismes à l'origine de l'ingrédient parfaitement caractérisés. <ul style="list-style-type: none"> • Procédé d'obtention parfaitement décrit. • Caractérisation et identification des molécules actives. • Identification des microorganismes ciblés de la fermentation.
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> • Non digestibilité et non assimilation dans la partie supérieure du système gastro-intestinal. • Fermentescibilité de façon sélective par un nombre limité de bactéries potentiellement favorable. • Capacité à altérer la composition de microflore en faveur d'une flore potentiellement plus saine. • Induction éventuelle d'effets systémiques qui peuvent être positifs pour la santé de l'hôte.
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Pas de transformation de l'ingrédient au cours des transformations et du stockage des préparations.

Etude Expérimentale

Objectifs de l'étude

L'objectif de cet essai est d'évaluer l'impact d'une addition d'un symbiotique sur les performances zootechniques, les résistances des souches *Escherichia coli*, la flore digestive du poulet de chair ainsi que la qualité sanitaire de la viande.

- ❖ Le premier but fixé dans notre étude était de déterminer l'effet de l'addition d'un symbiotique sur les paramètres de production (essentiellement l'indice de conversion, l'indice de consommation, le gain de poids, ainsi que le taux de mortalité).
- ❖ Un second but abordé au niveau de la flore intestinale, était d'observer les effets d'une telle supplémentation sur la charge bactérienne intestinale par la technique du dénombrement (dénombrement des coliformes totaux et fécaux), il s'agissait de déterminer une éventuelle amélioration du profil du microbiote et ainsi faire le lien entre les performances zootechniques obtenues et les résultats du dénombrement établi.
- ❖ Un autre but fixé est de voir l'impact de la supplémentation en symbiotique sur les antibiorésistances des souches *Escherichia coli*.
- ❖ Le dernier objectif est de déterminer l'impact de cette supplémentation sur la qualité sanitaire de la viande par le biais du dénombrement de la FAMT.

Matériels et méthodes

I. Elevage

I. 1. lieu durée et période de l'étude

Notre essai a été effectué dans une exploitation avicole privée, à TIFRAH, dans la wilaya de Tizi- Ouzou. Il s'est déroulé du 21 février au 14 mai 2017, soit une durée de 63 jours.

I. 2. Animaux

Trois milles quatre-vingt (3080) poussins d'un jour de souche ARBOR ACRES, provenant du même couvoir, sont triés et répartis en deux lots (témoin et expérimental) comprenant chacun 1540 poussins, en excluant les individus morts, trop chétifs ou lésés.

Les deux lots étaient séparés par une séparation en carton sur une hauteur de 1 mètre, et donc les deux lots étaient soumis aux mêmes conditions d'ambiances comme le montre la figure 3.



Figure 3: vue intérieure du bâtiment avec la séparation des deux lots (photo personnelle).

I. 3. Bâtiment

Le bâtiment d'élevage utilisé est un hangar de 32m de longueur et 8m de largeur, et donc de superficie égal à 256 m^2 contenant un SAS. Ce dernier sert de lieu de stockage d'aliment d'une superficie de 32 m^2 , le bâtiment est de type obscur surmonté d'une toiture à double pente, faite de tôle, la partie utilisée pour notre expérimentation est une chambre en dur. La ventilation est statique assurée par la présence de fenêtres placées à 1,5 m du sol pour l'entrée d'air et l'extraction des gaz est faite par la présence d'un extracteur et de 7 cheminées (figure 4).



Figure 4 : vue extérieure du bâtiment (photo personnelle).

I. 4. Conduite d'élevage

Le bâtiment a tout d'abord été nettoyé puis désinfecté (sol, paroi et plafonds), ainsi que tous le matériel utilisé au cours de l'élevage (mangeoires, abreuvoirs), à l'aide du TH5[®] qui est un désinfectant de surface qui a une action bactéricide, fongicide et virucide à raison de ;

Pulvérisation : prévoir environ 0,3 litre de solution par m^2 .

Trempage : prévoir 1 litre de TH5 dans 100 litres d'eau.

Pédiluve et rotoluve : prévoir 1 litre de TH5 diluée dans 100 litres d'eau.

- Vide sanitaire

Un vide sanitaire d'une durée de 1 mois a été pratiqué dans le but de prolonger l'action du désinfectant et d'assécher les sols et les parois ainsi que pour des raisons climatiques.

- Mise en place des poussins

Une surface de 32 m² a été conçue pour la mise en place des poussins avec une séparation au milieu d'une hauteur de 60 cm, pour obtenir une superficie de 16m² pour chaque lot, chaque compartiment contenait une éleveuse à gaz et 8 abreuvoirs, les poussins n'ayant reçu l'aliment que 6h après leur mise en place.



Figure 5: poussins au démarrage (photo personnelle)

- Litière

La litière est constituée de paille, sur une épaisseur d'environ 5 cm au cours de la phase de démarrage. Le premier jour la litière est recouverte de papier pour éviter les problèmes de glissement des poussins puis le papier est retiré le deuxième jours. Elle permet de limiter la déperdition de chaleur des animaux et l'absorption de l'humidité des déjections.

- Température, hygrométrie, taux d'ammoniac et vitesse de l'air

Ces quatre paramètres ont été contrôlés au cours de la période d'élevage et mesurés à j25 et j45 grâce à un appareil (Environment Meter ®) concernant la température, l'hygrométrie et la vitesse de l'air, et à l'aide de bandelettes (pulmotil A®) (Annexe 4) pour le taux d'ammoniac présent dans chaque compartiment (aire de vie) les valeurs sont rapportées dans le tableau 8 ci-après.

Tableau n° 8 : Température, hygrométrie, vitesse de l'air et taux d'ammoniac ambiant.

Mesures réalisées	Période de mesure	
	J25	J45
Température C°	26,9	19,3
Hygrométrie	62,8%	69,6 %
Vitesse de l'air m/s	0,4	0,3
Taux d'ammoniac*	Lot témoin : 10 ppm Lot expérimental : 5 ppm	Lot témoin : 20 ppm Lot expérimental : 10ppm

Le taux d'ammoniac* a été calculé au niveau de l'aire de vie des animaux à environ 30 cm du sol pour chaque lot.

I. 5.Equipements d'élevage

- L'alimentation est distribuée manuellement dans des trémies ;
- L'abreuvement est assuré par des abreuvoirs linéaires;
- Le chauffage du bâtiment est assuré par des radiants à gaz soit une éleveuse pour 500 poulets au cours de la période démarrage ;
- L'éclairage est assuré par des ampoules de 60 watts soit 5 watts/m².

I. 6. Programme sanitaire d'élevage

Le protocole sanitaire suivi au sein de notre exploitation est présenté dans le tableau 2.11. Il est à noter que toutes les vaccinations sont administrées per os dans l'eau de boisson.

Tableau 9 : Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai

Age (jours)	Vaccination et traitement
J1	Anti- stress pendant 05 jours
J4	Vaccination contre la maladie de Newcastle et bronchite infectieuse (HB1)
J7	Vitamine AD3E + vitamine C
J14	Vaccination contre la maladie de Gumboro (D78)
J17	Traitement anticoccidien pendant 05 jours
J21	Rappel de vaccination contre la maladie de Newcastle (souche sota)
J31	Anti stress (vitamines+ néoxyvital) pendant 4jours (néomycine / oxytétracycline)
J32	Rappel de vaccination contre la maladie de Gumboro
J 33	Rappel de traitement anticoccidien pendant 5jours
J47	Traitement antibiotique (Amoxicilline) à dose pulstile (20mg/kg/jr) pendant 5jours que pour le lot témoin.

II. Aliment

Les poulets des deux lots (témoin et expérimental) ont reçu les mêmes aliments de base sous forme de granules, avec trois types d'aliments standards successifs, correspondant à chaque phase d'élevage, à savoir :

- Aliment « Démarrage » distribué entre J1 et J10
- Aliment « Croissance » distribué entre J11 et J42
- Aliment « Finition » distribué entre J43 et j49

Durant toute la période d'élevage l'aliment et l'eau ont été fournis *ad libitum*, la composition et les caractéristiques calculées sont présentées ci – dessous tableau 3

Tableau 10 : Composition et caractéristiques des aliments utilisés durant l'essai.

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

PBC : phosphate bicalcique, CMV D-C : complément minéral et vitaminique pour les phases de démarrage et de croissance, CMV F : complément minéral et vitaminique pour la phase de finition.

III. Modalités de supplémentation en symbiotique

Le symbiotique utilisé dans cette étude est une association de probiotiques, de prébiotiques et d'enzymes commercialisé sous le nom d'ENZYVEBA[®], il s'agit d'un concentré de ferment lactique développé spécifiquement pour la santé des animaux monogastriques et ruminants.

La supplémentation est effectuée par pulvérisation sur la litière des poulets à raison d'une fois tous les deux jours pendant 1 mois dès la mise en place du poussin, puis tous les jours jusqu'à la fin de la bande.

Dosage du produit :

Pour 2 litres d'eau de source 1 litre de produit est utilisé.

IV. Traitements expérimentaux :

Pour étudier l'effet de l'utilisation du symbiotique chez le poulet de chair nous comparons deux lots :

- 1) **Un lot témoin (T)** n'ayant rien reçu au niveau de sa litière faite de paille
- 2) **Un lot expérimental (E)** ayant le même type de litière que le témoin (paille) mais recevant une addition en symbiotique par pulvérisation grâce à un canon durant toute la période de l'élevage.

L'utilisation du symbiotique couvre toute la période d'élevage de la bande (c'est-à-dire de j1 à j63). Son impact est évalué sur les paramètres zootechniques, la flore intestinale, les antibiorésistances des souches *Escherichia coli* ainsi que la qualité sanitaire de la viande.

V. Les paramètres étudiés

V. 1. évaluation des paramètres zootechniques

V. 1.1. le poids vif

En vue d'apprécier l'évolution du poids vif, un échantillon de 30 sujets de chaque lot (témoin et expérimental) a été pesé à j25 – j45 et j63. le poids moyen individuel est obtenu en divisant le poids total des animaux de chaque lot sur l'effectif des poulets pesés.

$$\text{Poids vif moyen (g)} = \text{Poids total des sujets (g)} / \text{Nombre des sujets}$$



Figure 6 : Pesée du poulet de chair (photo personnelle)

V. 1.2. gain de poids

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

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

V.1.3. Ingéré alimentaire

La quantité d'aliment consommé est calculée pour chaque lot à j25 –j45 et j63, par différence entre la quantité d'aliment distribuée au début et le refus mesuré à la fin.

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

V.1.4. Indice de consommation et de conversion

Les indices de conversion et de consommation sont calculés pour chaque lot à j25_j45 et j63, comme suit :

$$\text{Indice de Conversion} = \text{Ingéré alimentaire (g)} / \text{Gain de Poids (g)}$$

$$\text{Indice de Consommation} = \text{Ingéré alimentaire (g)} / \text{Poids Vif (g)}$$

V. 1.5. La mortalité

Le relevé quotidien de la mortalité est effectué au début de chaque journée, le taux de mortalité est calculé à j25 _j45 et j63 en appliquant la formule suivante :

$$\text{Taux de Mortalité (\%)} = \frac{\text{le Nombre de poulets morts} \times 100}{\text{Effectif présent à ce jour}}$$

V. 1.6. la pesée du foie

Après autopsie des animaux, Un échantillon de 10 foies de chaque lot est pesé à j25 et j45.



Figure 7 : pesée du foie (photo personnelle)

V. 2. Analyses bactériologiques

A partir de chaque lot (expérimental et témoin), Un effectif de 10 sujets est récupéré de l'élevage aléatoirement à J25 et J45, une autopsie est effectuée au niveau du laboratoire de pathologie aviaire de l'ENSV puis des prélèvements de matrice (foie et viande) sont effectués sur place et acheminés au laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV pour des examens bactériologiques.

V. 2.1. Echantillonnage et prélèvement :

Cette étude a porté sur la recherche et l'isolement *d'E.coli et Salmonelles* à partir de 40 foies de poulets sacrifiés par saignée, les échantillons sont prélevés par écouvillonnage de ce dernier



Figure 8 : prélèvement du foie par écouvillonnage (photo personnelle)

V. 2.2. milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés lors de notre expérimentation sont les suivants : (voir annexe1)

- BN (Bouillon Nutritif) est un milieu d'enrichissement pour les *E. coli* Institut Pasteur d'Algérie ; Bioscan Algérie
- EPT (Eau Peptonée Tamponée) est milieu de pré-enrichissement pour les salmonelles ; Bioscan Algérie
- SFB milieu d'enrichissement des salmonelles ; Bioscan Algérie

- Milieu (SS) *salmonelles -shigelles*, milieu d'isolement des salmonelles ; Bioscan Algérie
- Milieu Hektoen , milieu d'isolement des *Eschérichia coli* ; Bioscan Algérie
- Milieu TSI (Triple Sugar Iron) ; Dimed Algérie
- Milieu Mueller Hinton utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme ; Institut Pasteur Algérie
- Pour l'identification biochimique, nous utilisons la galerie API 20 E, BioMériaux, France.

V. 2.3. Produits de laboratoire :

Les produits de laboratoire et réactifs utilisés sont les suivants :

- Eau de javel, alcool 70°, eau physiologique 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif Kovac's, Réactif VP1, Réactif VP2, Réactif TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie ;
- Ecouvillons ; Disques d'antibiotiques présentés dans la figure.4

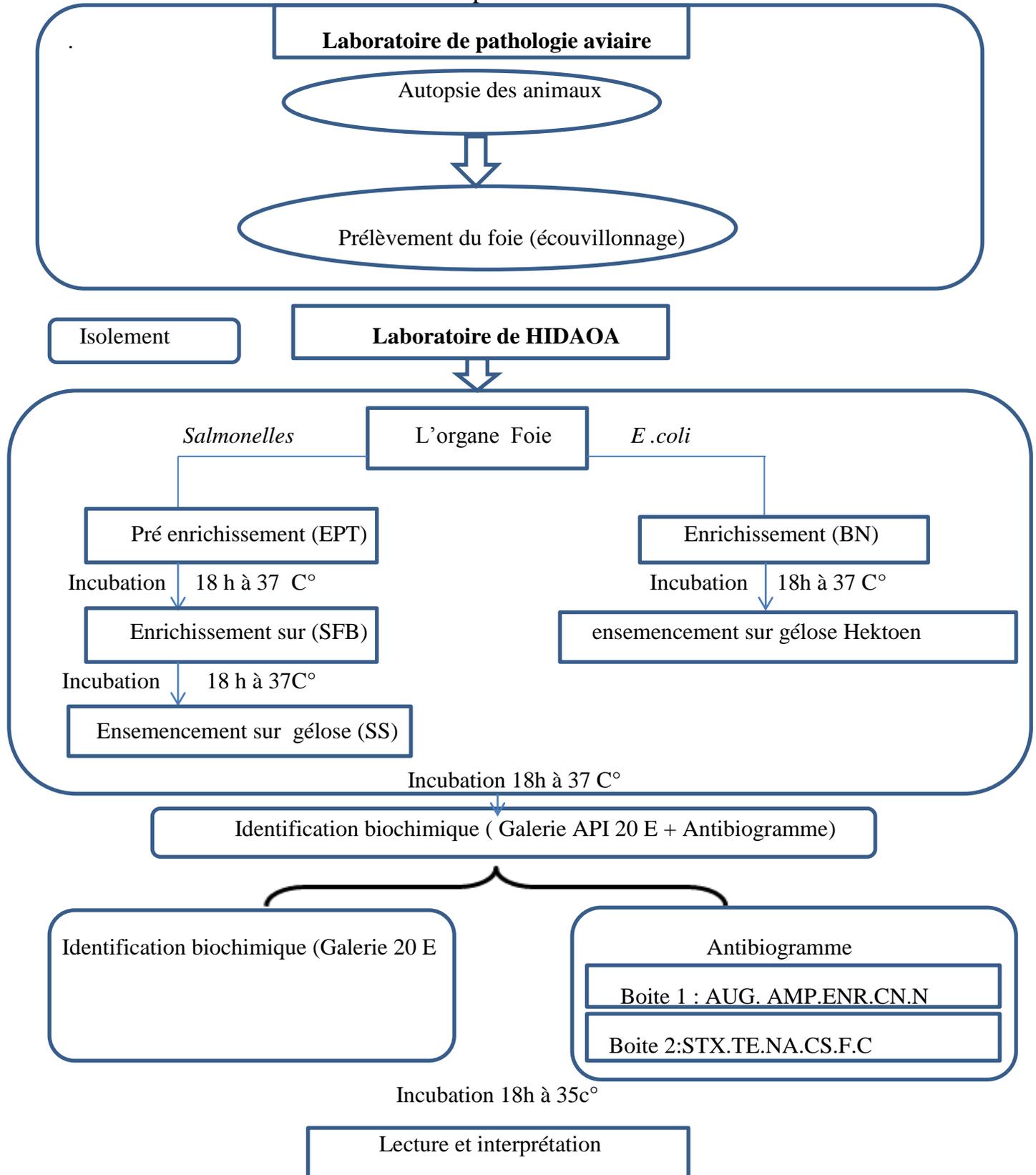


Figure 9 : Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme

V. 2.4. Conduite expérimentale :

Le schéma suivant regroupera les différentes étapes de l'expérimentation pour la recherche des *salmonelles* et des *E. coli* .

Schéma expérimental



V. 2.5. Bactériologie

Après avoir effectué les autopsies, les échantillons prélevés sont acheminés au laboratoire d'HIDAOA, avant les étapes bactériologiques on a procédé à :

- Désinfection de la paille avec de l'eau de javel ;
- Allumage du bec benzen pour travailler dans des conditions stériles.

V. 2.5.1. isolement des *Escherichia coli*.

V. 2.5.1.1. Enrichissement :

Le tube de bouillon nutritif (milieu d'enrichissement des *E. coli*), estensemencé par l'introduction de l'écouvillon contenant le prélèvement ce dernier sera incubé 18 à 24 h à 37°C.



Figure 10 : tubes BNensemencés par les échantillons (photo personnelle)

V. 2.5.1.2. Ensemencement :

On procède à l'ensemencement par la technique d'épuisement, à partir du tube BN contenant les écouvillons et incubé la veille. Une goutte de BN estensemencée sur la gélose Hektoen , puis une deuxième incubation est pratiquée pendant 18 à 24 h à 37°C.

V. 2.5.2. isolement des salmonelles

V. 2.5.2.1. Pré-enrichissement

Un tube d'EPT milieu de pré enrichissement, est ensemencé par l'introduction de l'écouvillon chargé en prélèvement, puis le tube sera incubé 18 à 24h à 37c°.

V. 2.5.2.2. Enrichissement

1ml du tube d'EPT incubé la veille est prélevé et introduit dans un tube SFB(milieu d'enrichissement des salmonelles) puis incubé 18 à 24 h à 37c°.

V. 2.5.2.3. ensemencement

A partir du tube SFB incubé la veille, une goutte est prélevée afin d'être ensemencé sur la gélose salmonelles -shigelles par la technique d'épuisement, puis une deuxième incubation est pratiquée pendant 18 à 24 h à 37 C°.

V. 2.5.3. identification des bactéries

Cette étape concerne l'identification microbiologique. Elle permet d'orienter l'opérateur vers une classe bien définie de bactéries. Elle met en œuvre les réactions suivantes

V. 2.5.3.1. identification morphologique

Sur le plan macroscopique :

- Pour les *Escherichia coli*

Les colonies apparaissent ronde et bombées, brillantes à bord net, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune orangé (figure 11).

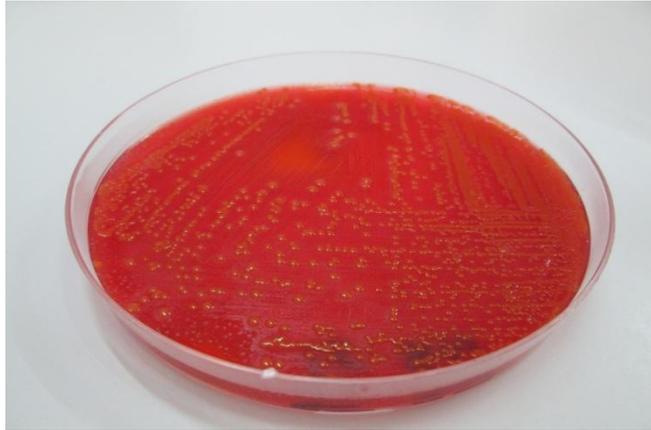


Figure 11 : aspect des colonies *E. coli* sur gélose Hektoen (photo personnelle).

- Pour les Salmonelles

L'aspect des colonies lactose négatives sont incolores, tandis que les colonies lactose positives sont rouges, pour les salmonelles on note souvent un pigment noir au centre de la colonie indiquant la production de H₂S.

V. 2.5.3.2. Identification biochimique

V .2.5.3.2.1. Test de la catalase

Cette enzyme est utilisée en bactériologie pour l'identification des bactéries. La plupart des bactéries à Gram négatif possèdent une catalase. La recherche de la catalase sur ce type de bactéries n'a pas d'intérêt. Pour les bactéries à Gram positif la recherche de cette enzyme permet de différencier les *Staphylococcus* et les *Micrococcus* (généralement catalase +) des *Enterococcus* et des *Streptococcus* (catalase -).

Il s'agit de déposer, sur une lame de verre propre, une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂), puis de mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette Pasteur ou une anse plastique à usage unique.

S'il y a formation de bulles, la bactérie possède la catalase. L'effervescence est due au dégagement de dioxyde. Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

V.2.5.3.2.2. Test oxydase

La recherche d'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles à Gram négatif. On utilise comme réactif le chlorhydrate. Des ampoules d'oxydase imprègnent le papier filtre de ce réactif. Sur une lame, on dépose une colonie avec une pipette Pasteur. S'il y a apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes, on conclut que la bactérie est oxydase + et qu'elle possède le cytochrome oxydase. S'il n'y a rien qui apparaît, la bactérie est oxydase - et ne possède donc pas l'enzyme respiratoire.

Remarque : 1) ne faut pas utiliser une anse en métal car elle serait oxydante.

Les colonies qui sont Gram -, catalase + et oxydase - seront identifiées à l'aide de TSI (Triple Sugar Iron) et Urée-indole

V. 2.5.3.2. 3. Test des trois sucres:

Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation du glucose, la production d'H₂S et du gaz par ces bactéries.

La fermentation du glucose induit (le virage au jaune au niveau du culot) du lactose (coloration jaunâtre au niveau de la pente), du saccharose (coloration jaunâtre au niveau de la zone intermédiaire) et la production de H₂S qui colore le milieu en noir qui est due à la formation du sulfure de fer (voir figure 12).

Technique :

Un tube de milieu TSI (Triple Sugar Iron) est ensemencé à partir d'une colonie (en stries sur la pente puis en piqûre centrale profonde dans le culot), le tube ne sera pas vicié complètement, il sera ensuite incubé 18 heures à 37°C.

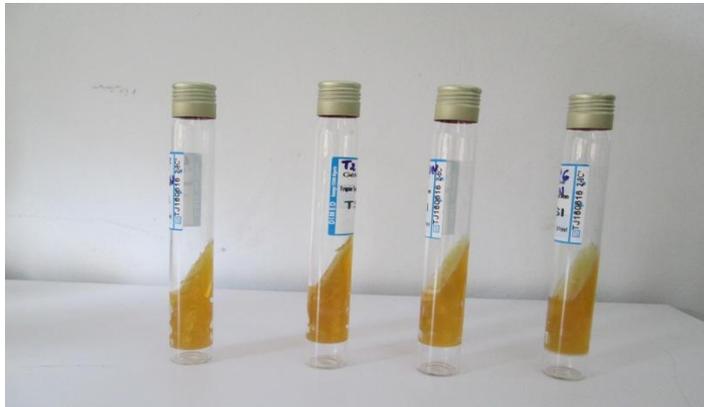
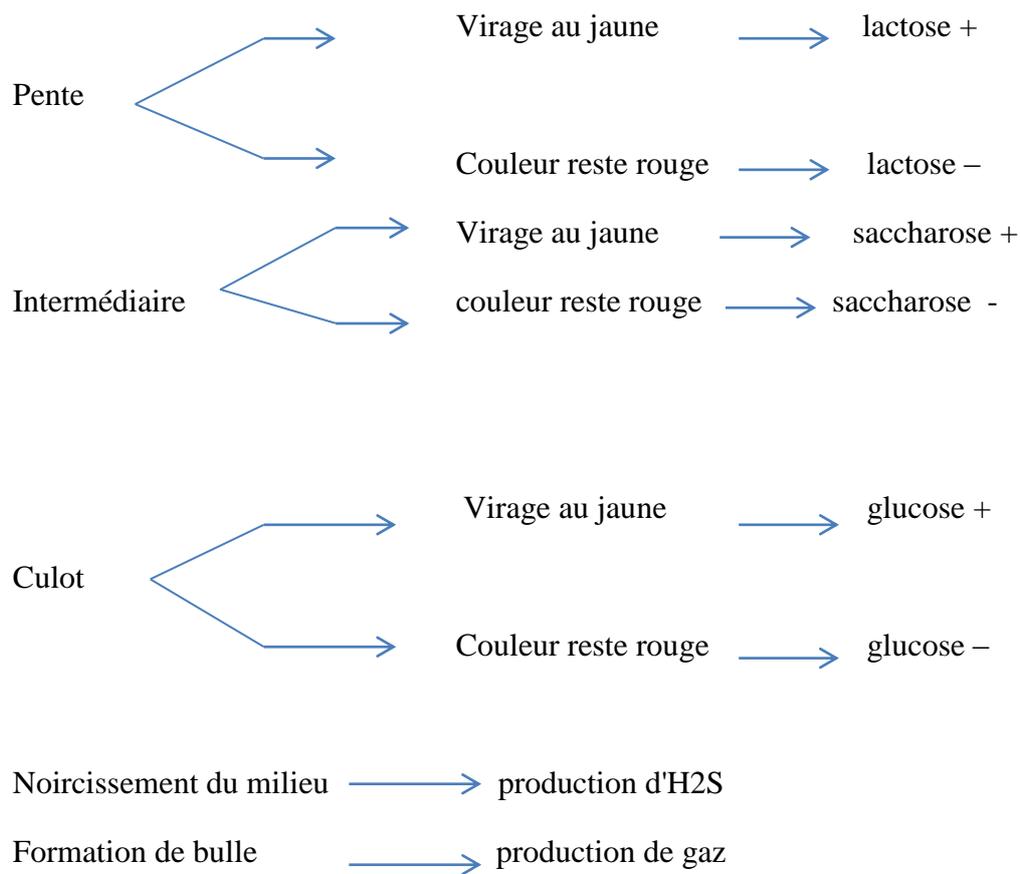


Figure 12 : Tubes de milieu TSI (photo personnelle)

V.2.5.3.2.4. Test uréase

L'uréase est une enzyme responsable de la réaction suivante :



Cette activité enzymatique peut être mise en évidence en cultivant la souche à tester sur un milieu d'urée-indole contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge phénol, qui est de couleur

jaune à pH 6,8 et devient rouge à pH 8,4. Lorsqu'un organisme urease positif croît sur un tel milieu, il libère de l'ammoniac qui alcalinise le milieu et entraîne un virage au rouge.

Dans le microtube contenant 1 ml du milieu urée-indole, on ensemence, à l'aide d'une pipette Pasteur, une suspension bactérienne de la colonie suspectée et on incube à 37°C pendant 18 à 24 h :

Milieu devient rouge • —————> réaction positive.

Milieu reste jaune • —————> réaction négative.

V.2.5.3.2.5. Test de l'indole

Il permet de savoir si un organisme peut produire de l'indole à partir de tryptophane grâce à une tryptophanase .

Après la recherche de l'uréase, on rajoute 3 à 4 gouttes du réactif de Kovac's au milieu urée-indole. Le tube est fermé et le mélange est agité. La production d'indole résultant de la dégradation du tryptophane est traduite par la formation d'un anneau rouge à la surface.

Anneau rouge —————> réaction positive

Anneau jaune —————> réaction négative

V. 2.5.3.3. Identification biochimique par galerie API 20 E

a) Objectif :

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

b) Principe :

La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le test indiqué par un sigle au-dessus du microtube.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanément ou révélés par l'addition de réactifs.

c) Mode opératoire :

c-1. Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Sortir la galerie de son emballage ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

c-2. Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ;
- Prélever des colonies sur le milieu TSI, en utilisant des cultures jeunes de 18-24 h à l'aide d'une pipette Pasteur ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

c-3. Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la

pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules).
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.



Figure 13 : Inoculation de la galerie API 20 E (photo personnelle)

d) . Lecture de la galerie :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture après addition des réactifs suivants :

- Une goutte de réactif TDA au test TDA ;
- Une goutte de réactif James au test IND ;
- Une goutte de réactif VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.

e) . Interprétation de la galerie :

L'identification est obtenue à partir du profil numérique qui est déterminé sur la fiche de résultats. Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.

La réaction d'oxydase, qui constitue le 21ème test, est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. Alors l'identification est faite à l'aide de :

- Catalogue analytique, en recherchant le profil numérique dans la liste des profils ;
- Logiciel d'identification API web™, en entrant manuellement le profil à 7 chiffre.



Figure 14 : Galerie API 20 E après incubation et ajout des réactifs (photo personnelle)

V.2.5.4. Antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard ou la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton, Institut Pasteur d'Algérie), selon les normes NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standards) qui est recommandée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

Tableau 11 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Sigle	Origine
Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique	20/10 µg	AUG 30	Liofilchem, Italie
	Ampicilline	10 µg	AMP 10	
Phénicolés	Chloramphénicol	30 µg	C 30	Liofilchem, Italie
Polypeptides	Colistine	10 µg	CS 50	
Aminosides	Néomycine	30 µg	N 30	Liofilchem, Italie
	Gentamicine	10 µg	CN ¹⁰	
Sulfamides	Triméthoprim-sulfaméthoxazole	(25) µg	SXT ²⁵	Bioanalyse, France
Furanes	Nitrofurantoïne	300 µg	F 300	Liofilchem, Italie
Cyclines	Tétracycline	30 µg	TE 30	
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	NA 30	Bio-rad, France
	Enrofloxacin	5 µg	ENR 5	

V. 2.5.4.1. Principe :

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

V. 2.5.4.2. Technique :

La gélose (Mueller Hinton) est coulée la veille en boîtes de Pétri stériles, sur une épaisseur de 4 mm ; les géloses sont séchées avant l'emploi.

A- Inoculum :

- ❖ A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- ❖ Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
- ❖ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ;
- ❖ L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- ❖ L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

B- Ensemencement :

- ❖ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- ❖ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- ❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- ❖ Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

N.B : Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

C- Application des disques d'antibiotiques :

- ❖ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre comme indiqué dans le tableau 12 et illustré dans la figure 15:

Tableau 12 : Application des disques d'antibiotiques par boîte de pétri

Boites	LES DISQUES D'ANTIBIOTIQUES						
	1	STX	CS	NA	TE	C	F
2	AUG	AMP	/	ENR	CN	N	

- ❖ Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;
- ❖ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

**Figure 15** : Application des disques imprégnés d'antibiotiques lors de l'antibiogramme (photo personnelle)

D- Incubation :

- ❖ 18 heures à 35°C ;
- ❖ La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

V. 2.5.4.3. Lecture :

- ❖ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;
- ❖ Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale Médecine humaine et vétérinaire (2011);
- ❖ Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

V. 2.5.5. Etude BLSE

V.2.5.1. Définition des bactéries BLSE

Les β -lactamases sont des enzymes d'inactivation hydrolysant le pont amide du cycle β -lactame (correspondant à la structure de base des β -lactamines).

Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE), constituent un groupe d'enzymes qui ont la propriété commune de conférer la résistance aux pénicillines, à la 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération de céphalosporines, à l'aztréoname (mais non aux céphamycines et carbapénèmes) par hydrolyse de ces antibiotiques, et qui sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases tel l'acide-clavulanique (Buch *et al*, 1995). Leur apparition dans les bactéries Gram négatif et leur dissémination coïncident avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines et les quinolones. Les bactéries productrices de BLSE peuvent occasionner des infections hospitalières et communautaires.

V.2.5.2. Techniques microbiologiques

La détection phénotypique des BLSE est basée sur le fait que celles-ci sont inhibées par l'acide clavulanique ainsi une augmentation de l'activité des C3G en présence d'acide clavulanique indique indirectement la présence d'une BLSE. Plusieurs tests sont connus pour notre étude, les tests de recherche des BLSE que nous avons utilisés sont :

- ✚ Le test de synergie considéré comme test de recherche
- ✚ Le test du double disque qui est un test de confirmation

Les souches ayant subi une étude BLSE étaient ceux qui avaient révélées des diamètres inférieur ou égal à 27 pour le céfotaxime à l'antibiogramme.

V.2.5.2.1. Test de synergie/ test de recherche

a) Principe

Le test consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamases et un disque de C3G.

b) Technique

Une gélose Mueller- Hinton estensemencée selon la technique NCCLS de l'antibiogramme, puis on dispose autour d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique les disques de céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et aztréoname, la distance entre les disques centre à centre est de 30mm (figure 16)

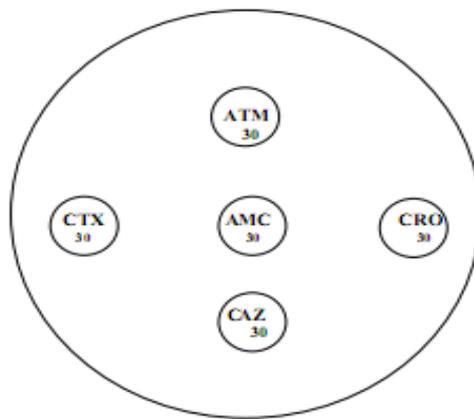


Figure 16 : Disposition des disques d'antibiotique pour le test de synergie.

ATM : aztréoname ; CAZ : ceftazidime ; CTX : céfotaxime ; CRO : ceftriaxone.

30 représente la quantité d'antibiotique en μg dans le disque.

c) Lecture

La présence d'une BLSE se traduit par l'apparition d'une synergie entre les disques des oxyimino- β -lactamines et le disque contenant l'acide clavulanique. Cette synergie se matérialise par une image en forme de bouchon de champagne (effet potentialisateur de l'acide clavulanique) comme le montre la figure 17 (Drieux *et al.*, 2008).

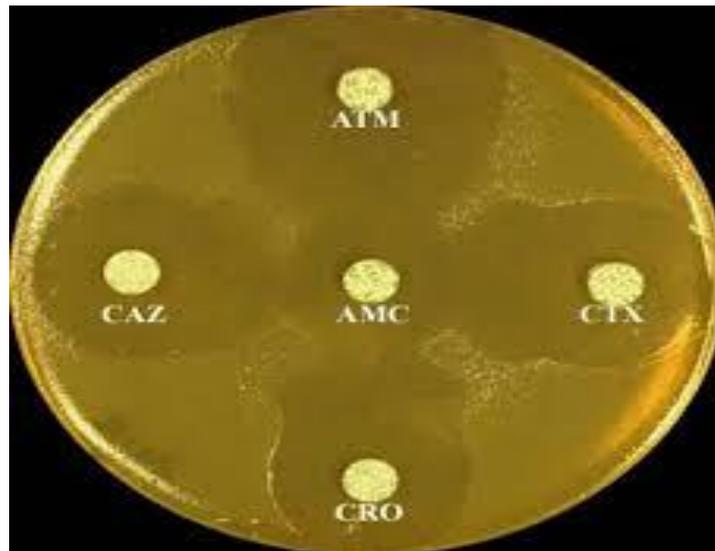


Figure 17 : test de synergie positif (en bouchon de champagne).

V.2.5.2.2. Test du double disque/ test de confirmation

a) Principe

La détection de la bêta-lactamases à spectre élargi (ou étendu) peut être confirmée par le test du double disque. Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque contenant l'association amoxicilline – acide clavulanique (AMC), comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose Mueller-Hinton (Rahal K, 1999).

b) Technique

Une suspension bactérienne a été préparée partir d'une culture de 18 h, une gélose Mueller-Hinton est ensuiteensemencée selon la technique de l'antibiogramme (NCCLS). Deux disques sont disposés l'un contenant l'AMC, l'autre une céphalosporine de troisième génération (CTX) selon le schéma (voir figure 18). La diffusion était faite à la température ambiante du laboratoire pendant une heure, puis le disque l'AMC est remplacé par un disque contenant la même céphalosporine de troisième génération Les boîtes de Péri sont incubées 18 heures à 35°C.

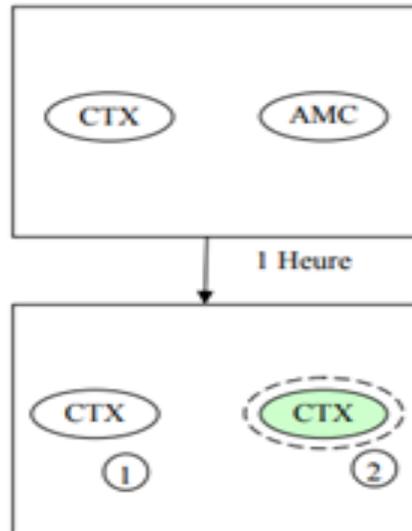


Figure 18 : schéma de confirmation des BLSE par le test du double disque.

c) Lecture

Le test est considéré positif si le diamètre de la zone d'inhibition du disque de C3G est inférieur de 4 à 5 mm comparé à celui observé autour du disque de C3G appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC.

V. 3. Dénombrement bactérien

Notre étude a porté sur la recherche et le dénombrement des coliformes (coliformes totaux, coliformes fécaux, et les *E. coli*) au niveau des fientes des poulets, ainsi que la flore aérobie mésophile totale (FAMT) au niveau de la viande et ce à la fin de l'essai (j45) et à partir des deux lots (témoin et expérimental), ce travail a été réalisé au sein du laboratoire d'IDAOA de l'école nationale supérieure vétérinaire.

V. 3.1. Les prélèvements effectués

V. 3.1.1 Prélèvement des fientes :

A partir de chaque lot, 25 g de fientes ont été prélevés de la litière (faire attention à ne pas prendre la partie qui est en contact avec la litière) mit dans un pot stérile et conserver à une température de 4C° dans une glacière avant d’être acheminer directement au laboratoire d’HIDAOA de l’école nationale supérieure vétérinaire pour effectuer les analyses.



Figure 19 : pesée des fientes (photo personnelle).

V. 3.1.2. Prélèvement de la viande

Après avoir sacrifié les poulets par saignée et effectué les autopsies, une portion du bréchet est prélevée aseptiquement de chaque sujet et mit dans un pot stérile, au final un total de 25g de viande est obtenu de chaque lot et acheminé au laboratoire d’HIDAOA de l’école nationale supérieure vétérinaire.



Figure 20 : prélèvement de viande au niveau du bréchet (photo personnelle)

V. 3.2. les germes dénombrés

Les germes dénombrés sont les coliformes (totaux et fécaux) au niveau des fientes ainsi, que la flore mésophile aérobie totale (FAMT) au niveau de la viande.

En ce qui concerne les coliformes qui constituent une flore naturelle du tube digestif, ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase négatif, aéro-anaérobies facultatifs fermentant le lactose avec production d'acides et gaz en 48h à une température de 37C°, ils appartiennent aux genres *Eschérichia coli*, *Citrobacter*, *Entérobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*...etc.

Outre les coliformes totaux cités précédemment on a les coliformes fécaux (thermotolérants) qui représentent environ 1% de la flore intestinale, et qui ont les mêmes propriétés que les coliformes, mais sont cultivés à la température de 44C°. ils correspondent le plus souvent à *Eschérichia coli*, *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* et *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica*. Cependant les coliformes peuvent contenir des espèces pathogènes qui causent des maladies comme la colibacillose due à *Eschérichia coli* (Camille Delarras, 2010).

La flore mésophile aérobie totale est constituée d'un ensemble de micro-organismes variés correspondant aux germes banals de contamination (il s'agit de groupes microbiens qu'il n'est pas nécessaire de définir au plan taxonomique), ce sont des bactéries indicatrices d'hygiène (test d'hygiène) dont le dénombrement constitue une bonne méthode d'appréciation de la qualité microbiologique de la viande de poulet de chair et de l'application des bonnes pratiques d'hygiène. Une flore mésophile trouvée en grande quantité indique que le processus d'altération de la viande est engagé. Ces germes ont une température optimale de croissance de 30°C et sont le reflet des mauvaises conditions d'hygiène générale (Joseph- Pierre Guiraud et Jean- Philippe Rosec, 2004).

La technique du dénombrement est celle utilisée pour les analyses microbiologiques alimentaires suivant les normes suivantes :

NF V 08- 050,1999 pour les coliformes totaux ;

NF V 08- 060, 1996 pour les coliformes fécaux ;

ISO 16649 pour *Escherichia coli* ;

V 08-011,1991/ ISO 4833 pour la FAMT.

V. 3.3. Les milieux de cultures utilisés

a) Milieu de dénombrement des coliformes

Deux milieux sont utilisés pour l'isolement des coliformes, le milieu VRBL (gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge de phénol) pour les coliformes totaux dont la composition est présentée dans l'annexe n° 1, c'est un milieu sélectif des Gram – par la présence des sels biliaires et cristal violet, le milieu VRBG (gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) dont la composition est présentée dans l'annexe n° 1, pour le dénombrement des coliformes fécaux C'est un milieu sélectif destiné à déterminer la présence et estimer la quantité d'entérobactériaceae présentes dans divers produits.

Pour le dénombrement des *Escherichia coli*, nous avons utilisé la gélose TBX (tryptone bile x glucuronide) voir annexe n°1 la composition du milieu, qui représente un milieu sélectif pour les *Escherichia coli* β - D glucuronidase positive, les sels biliaires inhibent la croissance des microorganismes gram + et favorisent la récupération des *Escherichia coli*.

b) Milieu utilisé pour le dénombrement de la FAMT

En ce qui concerne la flore aérobie mésophile totale, nous avons utilisé le milieu PCA (plate count agar) contenant un digestat enzymatique de caséine, de l'extrait de levure et du glucose voir annexe n°1, c'est un milieu qui est utilisé pour le dénombrement des micro-organismes aérobies (bactéries, levures, moisissures) se développant à 30C° pendant 72h dans les produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

V. 3.4 préparation des dilutions

Avant le lancement de la culture, une dilution mère (DM) est préparée pour chacun des deux prélèvements (fientes et viande) en introduisant 25g de produit dans un sac stomacher.

NB : pour la viande couper les 25g en petits morceaux à l'aide de ciseaux stériles puis le mettre dans le sac stomacher pour une meilleure homogénéisation.

- 225 ml de TSE (typtone sel eau) sont versés dans le sac stomacher.
- Le sac est placé dans l'appareil stomacher réglé à la vitesse maximale N°9 pour effectuer le broyage. Cette opération dont la durée varie entre 60 et 90 secondes selon la nature du produit, permettra la diffusion en solution de la flore bactérienne.
- La solution ainsi obtenue est versée dans flacon stérile et elle constitue la dilution 1/10 (10^{-1}).

A partir de la DM, des dilutions décimales sont préparées. Elles nécessitent la présence de nombreux tubes à essais contenant 9ml d'eau physiologique stérile et de nombreuses pipettes Pasteur stériles. On prélève stérilement 1ml de la DM que l'on introduit dans un tube à vis contenant 9ml d'eau physiologique stérile ; le tube est agité au moyen d'un vortex. On obtient ainsi, la dilution 1/100 ou (10^{-2}), puis on prélève 1ml de la dilution (10^{-2}) que l'on introduit dans un autre tube contenant le diluant stérile pour obtenir une dilution de (10^{-3}) et ainsi de suite... Dans notre travail, nous sommes arrivés jusqu'à la dilution (10^{-9}) pour le dénombrement des coliformes et jusqu'à (10^{-6}) pour la FAMT.

Toutes les manipulations sont effectuées dans la zone de protection du bec bunsen, avec toutes les précautions d'asepsie exigées en microbiologie.



Figure 21 : préparation des dilutions (photo personnelle).

V. 3.5. Ensemencement et incubation

- 1ml de chacune des dilutions est introduit au centre de la boîte de pétri, posée bien à plat dans la zone de protection du bec bunsen. (pour chaque dilution une nouvelle pipette stérile est utilisée)
- Les milieux gélosés en surfusion sont retirés du bain marie à 45C°, les ouvrir aseptiquement, flamber l'ouverture et couler le milieu dans les boîtes de pétri contenant l'inoculum après les avoir entrouvertes dans la zone stérile.
- Mélanger rapidement par agitations (mouvement en 8), laisser refroidir les boîtes bien à plat jusqu'à solidification complète (environ 30min).

Retourner les boîtes ainsi préparées (couvercle en dessous) et les incuber dans l'étuve réglée à 44 °C ± 1 °C durant 24 h ± 2 h pour les coliformes fécaux et les *Escherichia coli*

Pour les coliformes totaux les incuber dans l'étuve réglée à 37C° pendant 24h, et pour la flore aérobie mésophile totale incuber à 30C° pendant 72h.

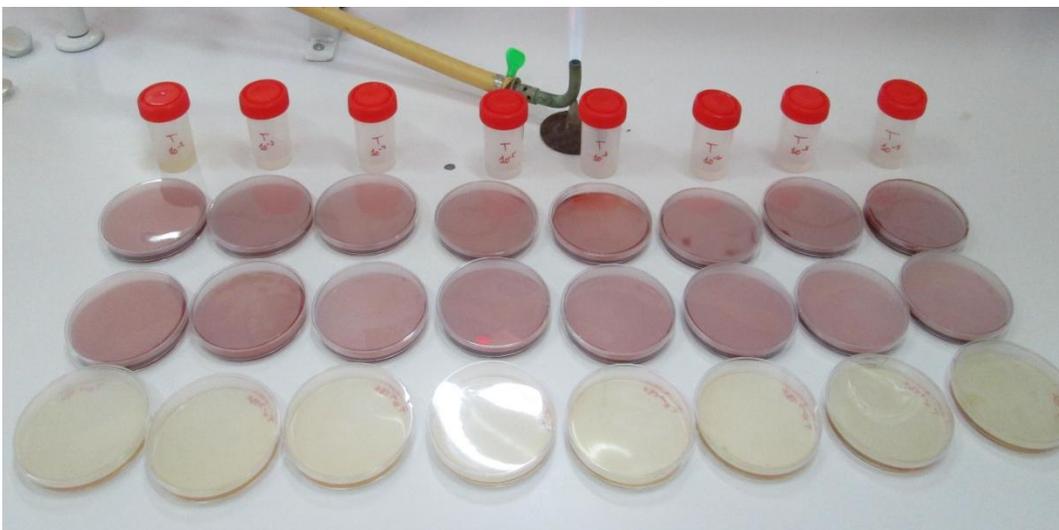


Figure 22 : ensemencement des coliformes sur gélose VRBL, VRBG et TBX

(Photo personnelle).

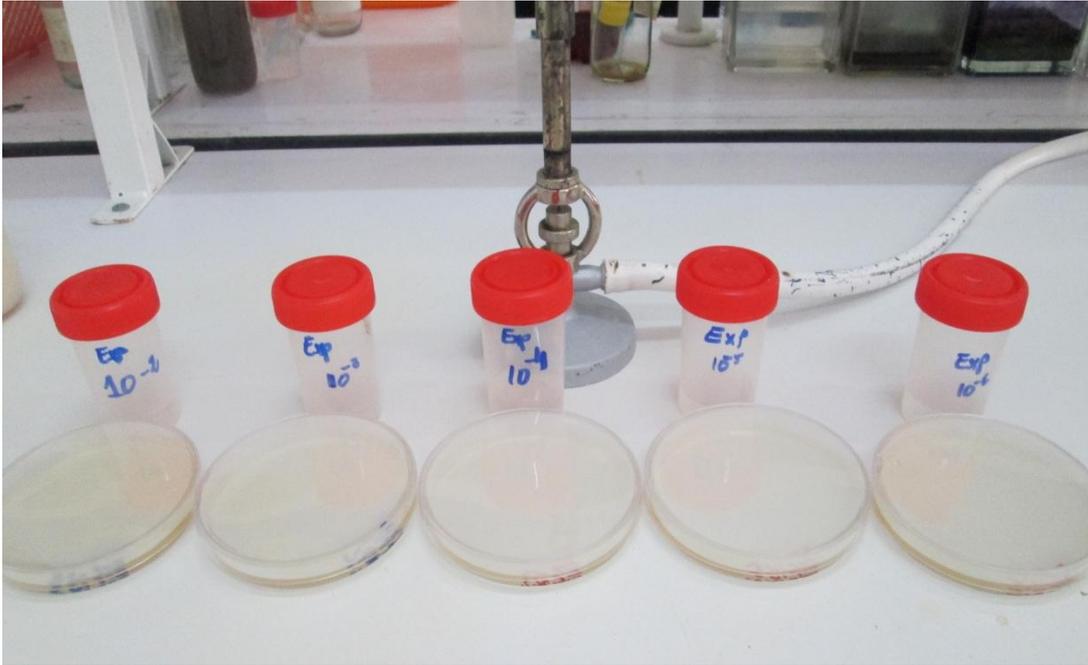


Figure 23 : ensemencement de la FAMT sur gélose PCA (photo personnelle).

V. 3.6. dénombrement des colonies

V. 3.6.1. Dénombrement des coliformes

Après la période d'incubation spécifiée, on procède au comptage des colonies caractéristiques Des coliformes pour chaque boîte ne contenant pas plus de 150 colonies au total. Au-delà de ce chiffre, les colonies de coliformes risquent de prendre des aspects non caractéristiques.

Après 24 h d'incubation, les colonies caractéristiques des coliformes sont violacées, d'un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm et parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile.

Pour les *Escherichia coli* ensemencés sur gélose TBX, les colonies caractéristiques apparaissent bleues, les colonies non caractéristiques présentent des colonies blanches à beige vert sur le milieu TBX.

V.3.6.2. Dénombrement de la FAMT

Après l'incubation compter toute les colonies (utiliser des boîtes dont le rendement est entre 30 et 300 colonies). En général, il faut éliminer les boites ayant moins de 30 colonies et plus de 300 (cf. normes précipitées, en microbiologie des aliments et des eaux).

Expression des résultats :

Calculer le nombre N de colonies correspondant au nombre UFC (unité formant colonie) présentes dans l'inoculum par millilitre ou par gramme de produit, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

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

où :

$\sum C$ est la somme des colonies caractéristiques comptées sur les deux boîtes retenues ;

d est le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

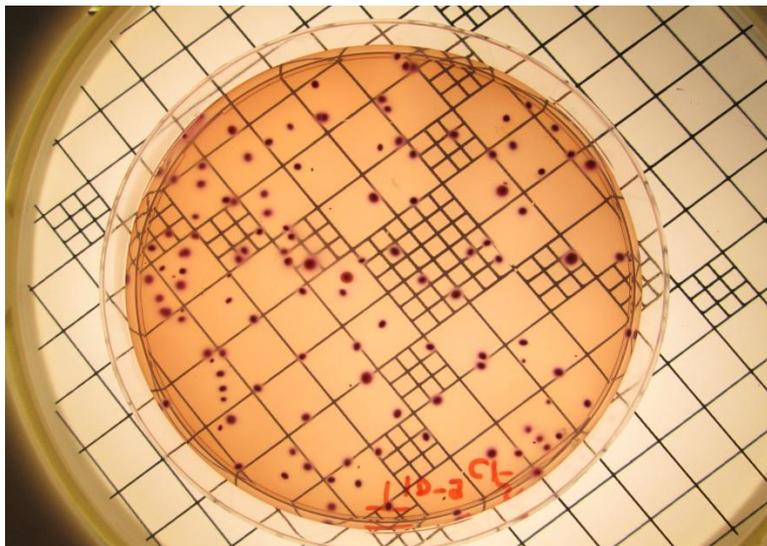


Figure 24 : dénombrement sous le compteur de colonie (photo personnelle).

VI. ANALYSE STATISTIQUE :

La comparaison des résultats des paramètres zootechniques à savoir (Indice de consommation, indice de conversion, poids vif du lot, gain de poids ainsi que l'ingéré alimentaire) sont obtenus après l'application d'un test non paramétrique notamment test wilcoxon signé avec correction de continuité. Celui-ci est applicable dans les cas de comparaison entre les paires « test apparié », de même nos variables ne devraient pas suivre forcément la loi normale. Cependant Pour les résultats du poids vif individuel nous avons appliqué le test de Fisher suivi par Student (comparaison entre deux moyennes). Et pour le taux de mortalité le test de l'écart réduit Z (comparaison entre deux proportions). Ces derniers tests c'est-à-dire « Fisher / Student », « l'écart réduit Z » sont considérés comme des tests paramétriques.

La comparaison entre les taux de résistances des souches *Escherichia coli* du lot témoin et du lot expérimental est vérifiée par le test KHI^2 de Pearson.

Toutes ces analyses sont effectuées à l'aide du logiciel d'analyse statistique XLstat version 2016.02.28451.

Nous examinons, dans cet essai, l'effet de la supplémentation en symbiotique (ENZYVEBA) sur les performances zootechniques, la flore digestive du poulet, les antibiorésistances des souches Escherichia coli ainsi que l'état sanitaire de la viande du poulet de chair , au cours d'un cycle complet de croissance (63 jours).

I. Performances zootechniques

I. 1. Effet du symbiotique sur le poids vif

I. 1.1. Poids vif individuel

Les valeurs de La moyenne des poids vifs des sujets mesurées à J25, J45, et J63, chez les poulets supplémentés (lot expérimental), et ceux n'ayant rien reçu au niveau de la litière (lot témoin) sont rapportées dans le tableau 13 et illustrées dans les figures 25, 26, 27

Tableau 13: Moyenne des poids vifs des sujets mesurée à J25, J45, J63 pour le lot témoin et le lot expérimental (Moyennes ; n= 30).

Poids vif (kg)	Lot témoin	Lot expérimental	Test Fisher		Test student		Valeur P
			F	P	T	P	
à J25	1,34	1,39	1,086	0,879	-0,866	0,394	P> 0,05 NS
à J45	3,00	3,08	1,798	0,284	-0,565	0,576	P> 0,05 NS
à J63	4,57	5,43	1,203	0,734	2,119	0,043	P< 0,05 S

NS : Non Significatif ; S : Significatif

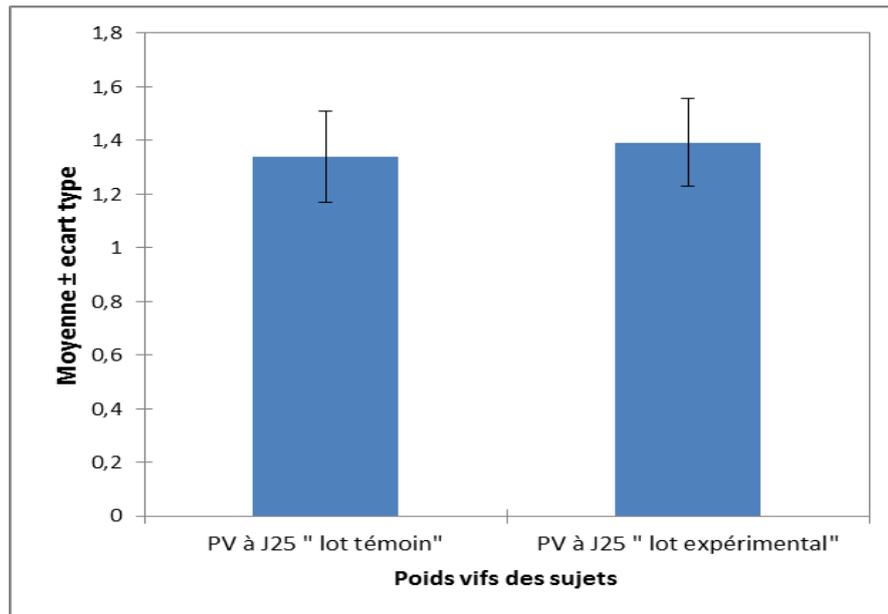


Figure 25: Moyenne des poids vifs à J25 pour le lot témoin et le lot expérimental.

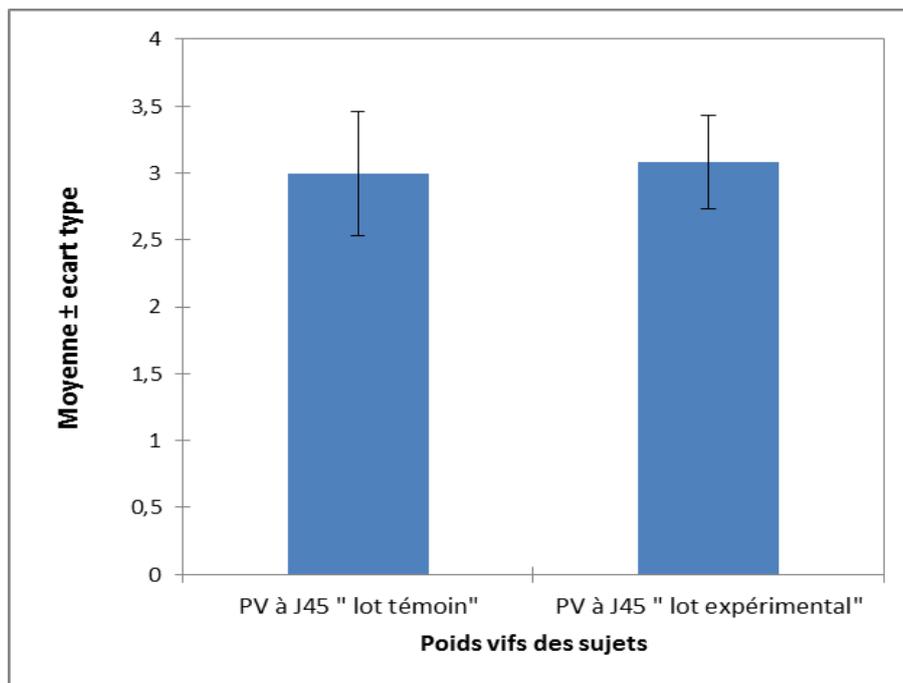


Figure 26: Moyenne des poids vifs à J45 pour le lot témoin et le lot expérimental

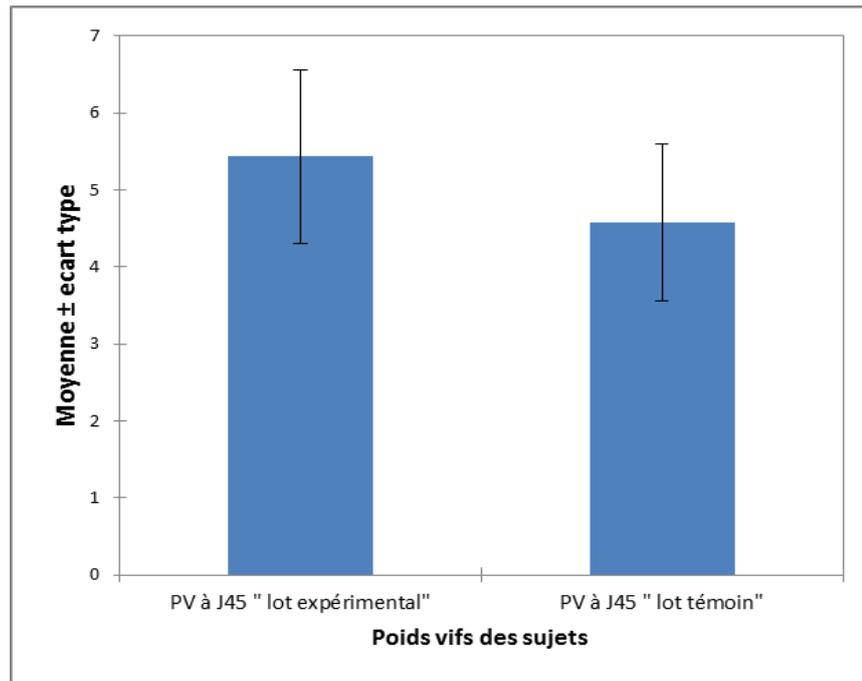


Figure 27: Moyenne des poids vifs à J63 pour le lot témoin et le lot expérimental

Nos résultats révèlent que, pour la phase démarrage et la phase croissance l'addition du symbiotique (ENZYVEBA) n'a pas modifié le poids vif des animaux : variations non significatives entre les deux lots à J25 et J45 $P > 0,05$ (malgré une moyenne plus élevée enregistrée chez le lot expérimental à j25 et j45). Contrairement à la fin de l'essai (J63) où la variation entre les poulets témoins et ceux recevant le symbiotique est significative $P < 0,05$.

D'autres études appuient cet effet positif des probiotiques sur la croissance des poulets. Ainsi, l'administration d'*Enterococcus faecium* M-74 à des poulets de chair améliore la croissance d'environ 11% à l'âge de 42 jours (Kralik *et al.*, 2004). Aussi, l'étude de Ramdane (2015) démontre un poids moyen statistiquement appréciable en faveur du lot supplémenté en probiotique *Pediococcus acidilactici* à J58. De même pour l'addition du probiotique *Pediococcus acidilactici* à la ration, plusieurs études révèlent une amélioration significative de la croissance des poulets supplémentés (Jin *et al.*, 1998 ; Simon *et al.*, 2001 ; Awaad, 2001 ; Vittorio *et al.*, 2005 ; Chafai, 2006).

Ainsi, dans l'expérimentation de Chaffai (2006), l'utilisation du *P. acidilactici* comme probiotique a augmenté significativement le poids vif en fin d'élevage (+ 8% environ à 56 jours d'âge en comparaison avec les témoins). Une amélioration comparable du poids (+7,5% à J49) avait été aussi soulignée par Awaad (2001) ce qui en concordance avec nos résultats révélés positifs entre la période de J45 à J63. En revanche une moindre amélioration du poids des poulets supplémentés (+3% à J35) est trouvée par Savoini et al (2004).

I. 1.2. Poids vif du lot

Les valeurs du poids vif du lot mesurées à J25, J45 et J63 pour chacun des deux lots, lot témoin et lot expérimental sont rapportées dans le tableau 14 et illustrées dans la figure 28

Tableau 14 : poids vif du lot mesuré à J25, J45 et J63 pour le lot témoin et le lot expérimental

	Lot témoin	Lot expérimental	Test Wilcoxon P
Poids vif du lot (Kg)			
à J1	62,37	63,65	
à J25	929,09	1029,42	
à J45	2167,36	2097,41	
à J63	3146,4	3834,65	
Global			P= 0,181 P> 0,05 NS

NS : Non significatif

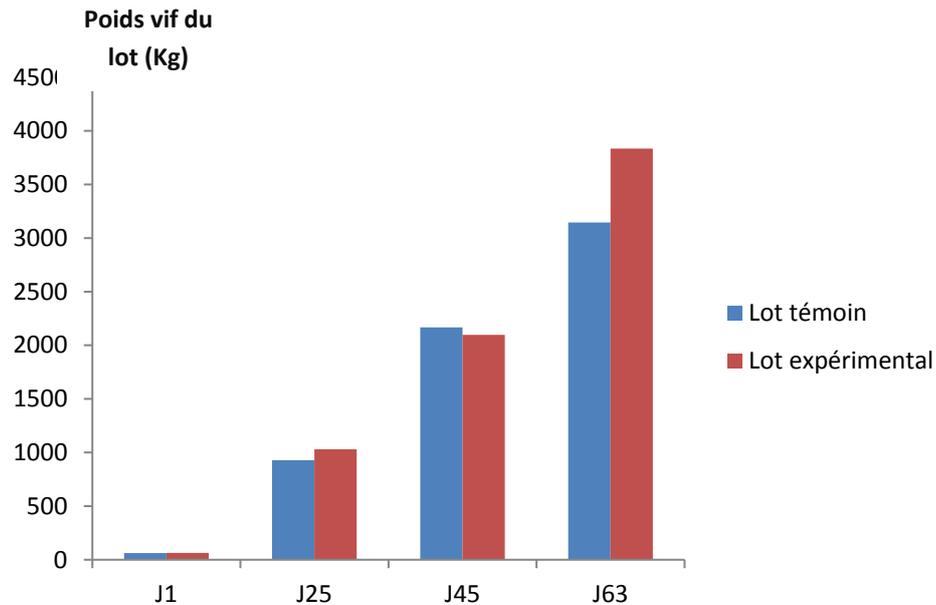


Figure 28 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur le poids vif (kg) du lot
Chez le poulet de chair

Théoriquement nos résultats révèlent que, l'addition du symbiotique a permis une légère augmentation du poids vif du lot expérimental à J25 et J63 par rapport au lot témoin, ceci dit à J45 nous avons enregistré le contraire avec une augmentation observée au niveau du lot témoin par rapport au lot supplémenté.

Cependant sur le plan statistique, nous avons utilisé le test de wilcoxon signé (test non paramétrique) avec la correction de continuité pour une comparaison appariée des deux lots (témoin et expérimental) à chacune des phases d'élevage, résultats détaillés du test (annexe 3).

Nos résultats révèlent que, l'addition du symbiotique (Enzyveba) n'a pas modifié le poids vif des animaux : seuil de signification global représentant les trois phases est non significatif $P > 0,05$ et donc les écarts des poids vifs enregistrés entre les poulets supplémentés en symbiotique et les poulets témoins ne sont pas statistiquement différents : variations non significatives entre les deux lots au cours de toute la période d'élevage.

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

I. 2. Effet du symbiotique sur le gain de poids

Les valeurs des gains de poids mesurées à la fin de chaque phase d'élevage (démarrage, croissance et finition), chez les poulets supplémentés en symbiotique pour le lot expérimental et ceux témoin n'ayant rien reçu au niveau de la litière, sont présentées dans le tableau 15 et la figure 29.

Tableau 15 : Gain de poids, par phase d'élevage et cumulé, des poulets témoins (lot témoin) et ceux recevant le symbiotique (lot expérimental)

	Lot témoin	Lot expérimental	Test Wilcoxon P
Gain de poids (Kg)			
Démarrage (J1 – J25)	866,53	965,77	
Croissance (J25 – J45)	1238,27	1067,98	
Finition (J45 – J63)	979,03	1737,23	
Cumulé (J1 – J63)	3084,03	3770,99	
Global			P= 0,361 P> 0,05 NS

NS : Non significatif

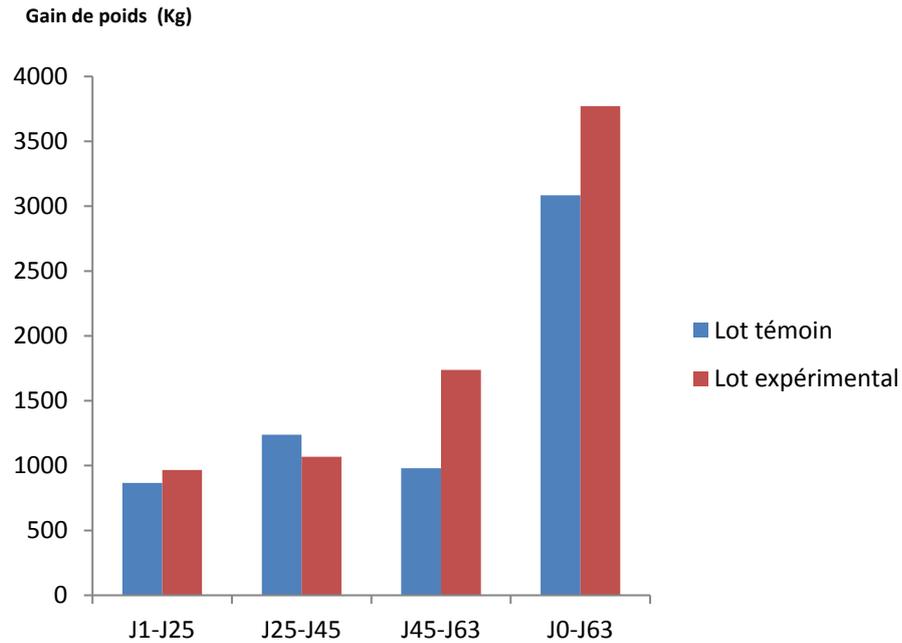


Figure 29 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur le gain de poids chez le poulet de chair

Nos résultats révèlent, qu'après la supplémentation en symbiotique une légère augmentation est enregistrée dans le lot expérimental comparé au lot témoin, durant la période de démarrage (J1 – J25), finition (J45 – J63) et la période cumulée (J1 – j63).

En contrepartie, une légère baisse est rapportée durant la phase de croissance (J25 – J45) dans le lot expérimental par rapport au lot témoin comme le montre la figure 29.

Statistiquement, les écarts des gains de poids enregistrés durant les périodes (démarrage, finition et cumulé) entre les poulets supplémentés en symbiotique et les poulets témoins ne sont pas statistiquement différents, seuil de signification global représentant les trois phases et non significatif $P > 0,05$ résultats détaillé du test en annexe 3.

L'étude de Sais (2004) réalisée à (L'ITELV de Baba –Ali) avec la souche *Pediococcus acidilactici* indique aussi une variation de gain de poids cumulée de 12% au profit des sujets supplémentés, sans pour autant être significative.

Cependant, d'autres études rapportent un effet positif des probiotiques sur le gain de poids, Bourenane et Namane (2007) ont constaté une amélioration significative du gain de poids des poulets supplémentés en probiotiques associant *Bacillus subtilis* et *B. licheniformis* par

rapport aux témoins (essai au niveau de L'ITELV de Baba- Ali), aussi, l'étude Ramdane (2015) démontre un gain de poids comparable au cours de la phase de démarrage pour le lot témoin et le lot probiotique (*P. acidilactici*), alors que celui obtenu au cours des phases croissance et finition est significativement différent au profit du lot probiotique. Yeo et Kim (1997) démontrent que la supplémentation alimentaire en *Lactobacillus casei* permet d'augmenter le gain de poids des poulets durant les 3 premières semaines d'âge comparativement aux témoins. Une autre étude Amara 2012 démontre un gain de poids peu important pour le lot symbiotique (*Lactobacillus plantarum* (probiotique) + FOS (prébiotique)) durant la 1^{ère} semaine d'élevage, cependant à partir de la 5^{ème} semaine une nette augmentation de poids est rapportée chez le lot symbiotique en comparaison avec le lot témoin, ce résultat rejoint celui d'Idoui et *al.*, 2008 indiquant une bonne valorisation de l'aliment par les animaux recevant la souche probiotique *L. plantarum*.

I. 3. Effet du symbiotique sur l'ingéré alimentaire

Les quantités d'aliments consommées durant l'essai pour chaque phase d'élevage (démarrage, croissance, finition) par les poulets témoins et ceux recevant le symbiotique sont présentées dans le tableau 16 et la figure 30.

Tableau 16 : ingéré alimentaire, par phase d'élevage et cumulé des poulets témoins (lot témoin) et supplémentés (lot expérimental).

	Lot témoin	Lot expérimental	Test wilcoxon p
Ingéré alimentaire (Kg)			
Démarrage (J1 –J25)	2350	2500	
Croissance (J25- J45)	2650	2400	
Finition (J45 – J63)	4750	4200	
Cumulée (J1 – J63)	9750	9300	
Global			P= 0,201 P> 0,05 NS

NS : NON SIGNIFICATIF

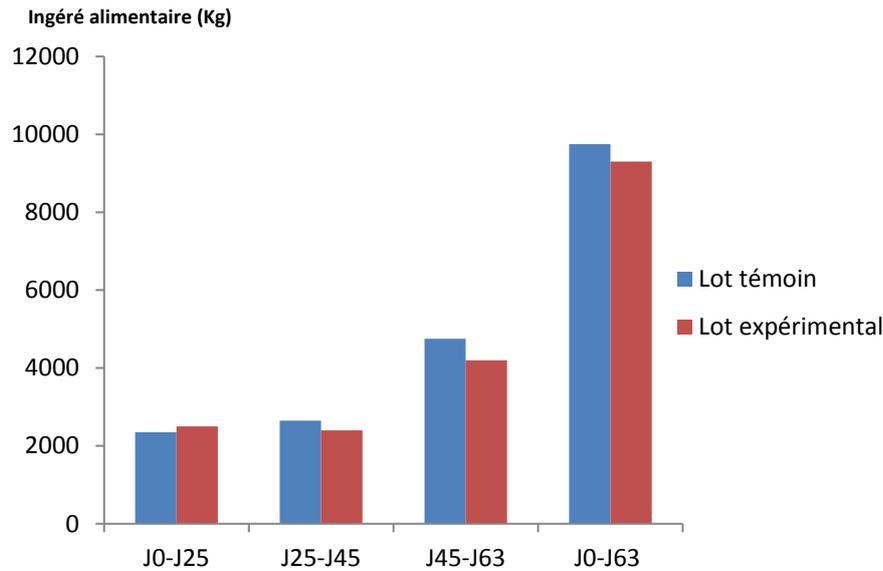


Figure 30 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur l'ingéré alimentaire.

Nous pouvons remarquer, qu'en phase de démarrage (J1 – J25) l'ingéré alimentaire des poulets du lot expérimental est légèrement plus élevé que celui des poulets du lot témoin \pm 200kg, en revanche durant la période de croissance (J25 –J45), la période de finition (J45 – J63) ainsi que la phase cumulée (J1 – J63) la quantité d'aliment ingéré est légèrement plus faible chez les poulets supplémentés en symbiotique (lot expérimental) comme le montre la figure 30, cependant ces résultats restent non significatifs puisque le seuil de signification global $P > 0,05$.

En définitive, si nous considérons la période globale de l'élevage, nous constatons que la supplémentation en symbiotique des poulets du lot expérimental n'a pas réduit significativement $P > 0,05$ la consommation d'aliment par rapport aux poulets du lot témoin.

Comme pour la croissance, l'impact de l'addition du symbiotique (Enzyveba) sur la consommation de l'aliment varie selon les études. Ainsi, l'étude Sais (2004) et Chafai (2006) rejoignent nos résultats après avoir testé le probiotique *P. acidilactici*, elles ne rapportent pas de différence significative entre l'ingéré des poulets supplémentés et celui des témoins. Elles indiqueraient même une légère augmentation. Cette légère élévation de la consommation est

aussi signalée par Bourenane et Naamane (2007) chez les poulets recevant une préparation à base de *B. subtilis* et *B. licheniformis*.

Cependant une diminution de l'ingéré alimentaire après l'utilisation du probiotique *P.acidilactici* a été rapportée dans d'autres expérimentations comme le montre Jin et al (1998) et Simon et al (2001).

I. 4. Effet du symbiotique sur l'indice de consommation

Les indices de consommation relevés à J25, J45, J63 à partir du lot témoin et du lot expérimental sont présentés dans le tableau 17 et la figure 31.

Une première comparaison a été effectuée entre les indices de consommations enregistrés au niveau du lot témoin et ceux enregistrés au sein du lot expérimental, puis une seconde entre les indices obtenus au sein du lot expérimental avec les indices du standard de la souche.

Tableau 17 : Indice de consommation, relevé à J25, J45, J63 à partir du lot témoin et du lot expérimental.

Indice de consommation	Lot témoin	Lot expérimental	Indice de consommation théorique de la souche
à J25	2,53	2,42	1,36
à J45	2,30	2,33	1,76
à J63	3,10	2,50	2,12
	P= 0,21 ; P> 0,05 NS		
		P= 0,181 ; P>0,05 NS	

NS : Non significatif

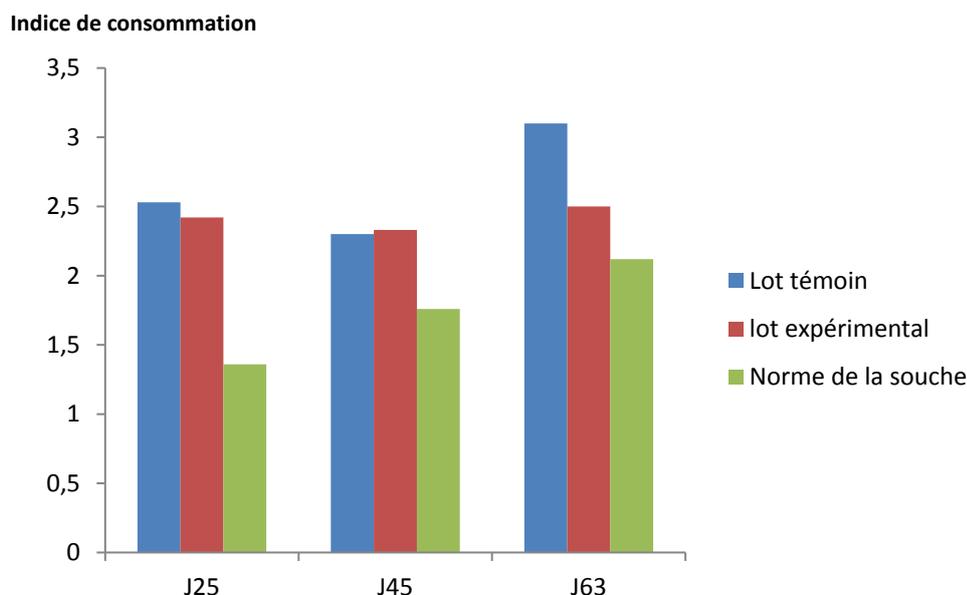


Figure 31 : Evolution de l'indice de consommation pour le lot témoin, le lot expérimental et le standard de la souche.

D'après nos résultats, il apparaît qu'à J25 l'indice de consommation enregistré chez les poulets du lot expérimental semble légèrement meilleur que celui des poulets témoins 2,42 contre 2,53 respectivement, de même qu'à J63 avec 2,50 pour le lot expérimental contre 3,10 pour le lot témoin.

Contrairement à J45 où les poulets du lot témoin ont enregistré un meilleur indice de consommation en comparaison aux poulets du lot expérimental : 2,30 vs 2,33 respectivement.

Ceci dit, cette amélioration enregistrée au sein du lot expérimental semble non significative, seuil de signification global ($P = 0,21$), $P > 0,05$.

Dans cette présente étude, l'apport en symbiotique n'a pas significativement réduit l'indice de consommation global des poulets du lot expérimental $P > 0,05$.

D'autres études montrent que l'apport de probiotique réduit l'indice de consommation cumulé des poulets avec une diminution moyenne de 3% (Hammami 2009). De tels résultats sont aussi rapportés par d'autres auteurs (Jin *et al.*, 1998 ; Simon *et al.*, 2001 ; Sais, 2004 ; Vittorio *et al.*, 2005 ; Chafai, 2006 ; Bourenanae *et Namane*, 2007), l'étude de Ramdane (2015) démontre un effet positif des probiotiques sur l'indice de consommation cumulé avec

1,79 contre 2,33 pour le lot témoin. Aussi, l'administration d'une souche d'*Enterococcus faecium* M-74 à des poussins durant 6 semaines améliore l'indice de consommation « 2,02 contre un IC de 2,16 pour le lot témoin » (Invankoviç *et al.*, 1999).

✚ Comparaison entre le lot expérimental et le standard de la souche

Le test statistique utilisé pour cette comparaison est le test de Wilcoxon signé/ test bilatéral « test non paramétrique » avec la correction de continuité (voir annexe 3)

Ce test a révélé que la comparaison entre l'indice de consommation du lot expérimental et l'indice de consommation révélé par le standard de notre souche (Arbor arces) à j25, J45 et J63 un seuil de signification global $P = 0,181$ donc $P > 0,05$ qui est non significatif.

Notons que notre valeur P qui est égal à 0,181 est plutôt loin de notre seuil de signification qui est de 0,05 c'est-à-dire 5%, ceci nous informe que l'indice de consommation du lot expérimental semble loin de l'exigence de l'indice de consommation du standard de la souche utilisée.

I. 5. Effet du symbiotique sur l'indice de conversion

Les indices de conversion relevés durant toutes les phases de l'étude chez les poulets témoins et ceux supplémentés en symbiotique sont présentés dans le tableau 18 et la figure 32.

Tableau 18 : Indice de conversion, par phase d'élevage des poulets du lot témoin et ceux du lot expérimental.

	Lot témoin	Lot expérimental	Test wilcoxon p
Indice de conversion			
Démarrage (J1 –J25)	2,71	2,58	
Croissance (J25- J45)	2,37	2,41	
Finition (J45 – J63)	3,16	2,60	
Global			P= 0,423 P> 0,05 NS

NS : Non significatif

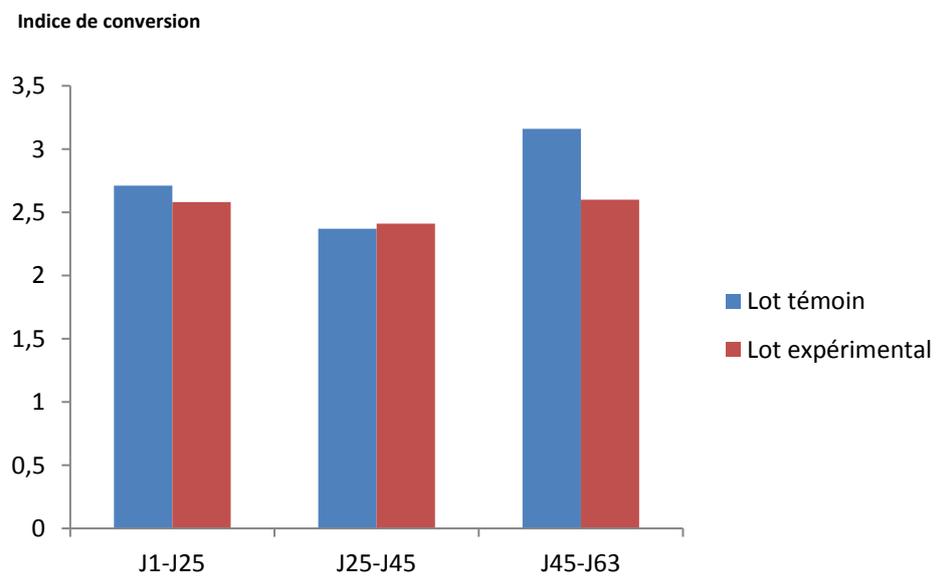


Figure 32 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur l'indice de conversion du poulet de chair.

D'après les résultats obtenus, il apparaît qu'en période de démarrage (J1 –J25), l'indice de conversion semble meilleur chez les poulets du lot expérimental par rapport aux poulets du lot témoin, 2,58 contre 2,71 respectivement, soit une baisse de 5%. Ainsi que pour la phase de finition (J45 – J63) l'indice de conversion enregistré au sein du lot des poulets supplémentés semble meilleur que celui relevé chez le lot témoin, 2,60 contre 3,16 respectivement soit une baisse de 16%.

Parallèlement à cela, durant la phase croissance (J25 – J45) le meilleur indice de conversion a été enregistré au niveau du lot témoin par rapport au lot expérimental comme le montre la figure 32.

Dans cette présente étude, et en considérant toute la période d'élevage, la baisse des indices de conversion alimentaire notées durant les phases démarrage et finition chez le lot expérimental comparé au lot témoin reste tout de même non significative puisque le seuil de signification global P est égal à 0,423 et donc $P > 0,05$.

De pareils résultats, ont été signalés par Kahraman *et al.*, (2000), Johri (2004) et Mountzouris *et al.* (2006), ou aucun effet positif des bactéries lactiques n'a été rapporté sur l'indice de conversion dans leurs expérimentations. Par contre l'essai de Hammami (2009) démontre une diminution significative de l'indice de conversion jusqu'à 3% chez les poulets recevant le probiotique *P.acidilactici* par rapport aux poulets témoins. de tels résultats sont aussi rapportés par d'autres auteurs (Jin *et al.*, 1998 ; Simon *et al.*, 2001 ; Sais, 2004 ; Vittorio *et al.*, 2005 ; Chafai, 2006 ; Bourenane et Namane, 2007).

I. 6. Effet du symbiotique sur la mortalité

Les taux de mortalités mesurés à chaque phase d'élevage (démarrage, croissance et finition) et la mortalité globale enregistrée pendant toute notre expérimentation sont présentés dans le tableau 19 et la figure 33.

Tableau 19 : Taux de mortalité, par phase d'élevage et cumulé, des poulets du lot expérimental et ceux du lot témoin.

Mortalité %	Lot témoin	Lot expérimental	Test de l'écart réduit	
			Z	P
Démarrage (J1 - J25)	3,18	2,73	0,639	0,523* NS
Croissance (J25 - J45)	2,95	3,07	-0,084	0,933* NS
Finition (J45 - J63)	4,63	2,55	2,917	0,004** S
Cumulé (J1 - J63)	10,39	8,12	2,116	0,034*** S

*P>0,05 NS ; **P<0,05 S

NS : Non significatif ; S : Significatif.

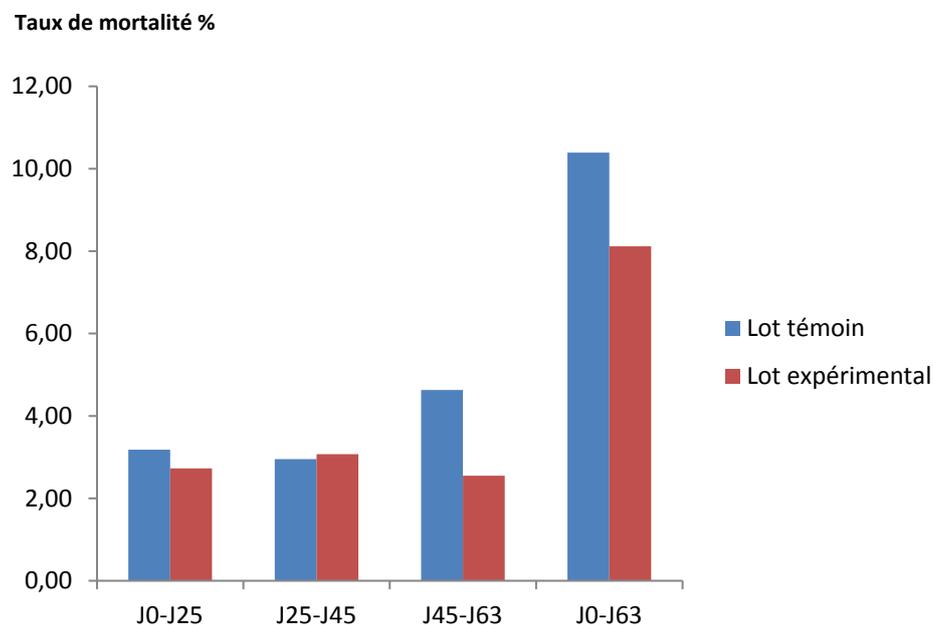


Figure 33 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur la mortalité (%) du poulet de chair

Nos données indiquent, que durant la phase démarrage (J1 – J25), le taux de mortalité enregistré chez les poulets supplémentés en symbiotique est plus faible que celui relevé chez les poulets témoins puisque on note une diminution de près de 14% en faveur du lot expérimental, cependant cet écart reste non significatif car il n'atteint pas le seuil de signification choisi $P > 0,05$.

En phase de croissance, les résultats enregistrés révèlent une légère augmentation du taux de la mortalité au sein du lot expérimental par rapport au lot témoin, ceci pourrait s'expliquer par l'erreur d'élevage produite à J31 (voir discussion générale).

Par ailleurs, au cours de la phase finition (J45 – J63), on note une baisse de la mortalité de près de 44% en faveur du lot supplémenté en symbiotique révélée statistiquement significative $P < 0,05$.

Au final, nous constatons que l'apport en symbiotique chez le lot expérimental a diminué de près de 21% le taux de mortalité cumulé (J1 – J63) comparativement aux poulets n'ayant rien reçu (lot témoins). Cette baisse s'est révélée statistiquement significative $P < 0,05$.

Nos résultats rejoignent ceux rapportés par Hammami (2009), qui a recensé une réduction de mortalité de près de 40% chez les poulets supplémentés en probiotique par rapport aux témoins. De pareils résultats ont été enregistrés à la station expérimentale Baba-Ali en utilisant *P.acidilactici* comme probiotique (ITELV, 2002 ; Bentoumi, 2004). Aussi le travail de Ramadane (2015) montre un taux de mortalité presque nul durant la phase croissance et finition pour le lot probiotique comparé au lot témoin.

Cette meilleure survie des poulets supplémentés en probiotique *P.acidilactici* est également rapportée dans d'autres études (Jin *et al.*, 1998 ; Johri, 2004 ; Ramirez *et al.*, 2005). Pelicano *et al.*, (2004), mentionnent aussi que l'administration d'une souche de lactobacille *Bacillus subtilis* réduit le taux de mortalité des poulets durant toute la période d'élevage. De même, Siwiki *et al.*, (2005) ont démontré que la consommation d'aliment contenant un mélange de probiotiques (*Lactobacillus salivarius* AWH, *L.acidophilus* BS, *L.helveticus* b9, *Bifidobacterium longum* ICUJ et *B. animalis* 30) réduit significativement le taux de mortalité des poulets par comparaison à un lot témoin.

Par contre, Vittorio *et al.*, (2005) trouvent des taux de mortalité comparables entre les poulets témoins et ceux supplémentés en probiotique : 2,7% vs 2,8%. Il en est de même pour les études de Sais (2004), Chafai (2006) et Bourenane et Naamane (2007). Le rôle favorable sur l'état sanitaire de l'hôte induit par l'introduction des bactéries lactiques dans l'aliment serait dû à l'exclusion compétitive, la synthèse d'acide lactique entraînant la baisse du pH ou encore la stimulation du système immunitaire local ou systémique (Vittorio *et al.*, 2005).

I. 7. Effet du symbiotique sur la pesée du foie :

La pesée des 10 foies enregistrée à J25 et J45 pour les poulets du lot témoin et ceux du lot expérimental est rapportée dans le tableau 20 et la figure 34.

Tableau 20 : pesée du foie à J25 et J45 pour le lot témoin et lot expérimental

Pesée du foie (g)	Lot témoin	Lot expérimental
J25	103	130,9
J45	244,3	239,5

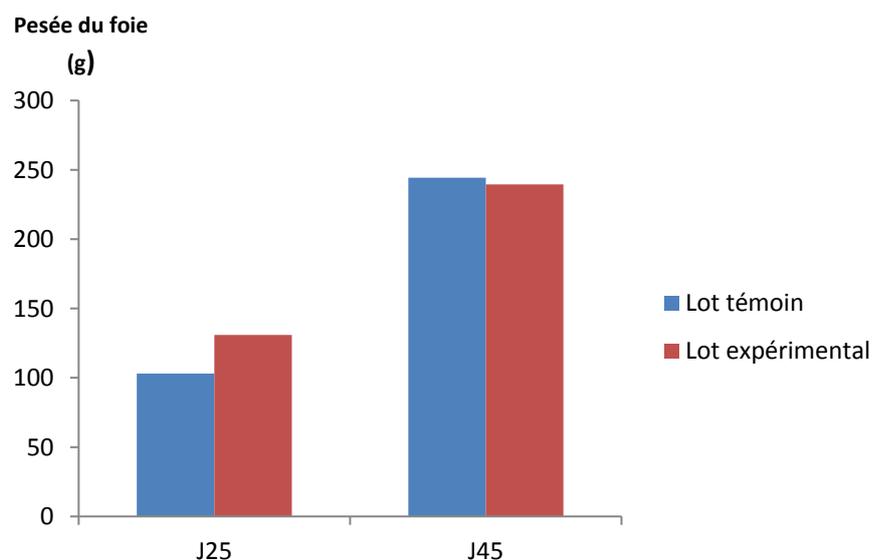


Figure 34 : Effet du symbiotique sur le poids du foie.

Les résultats montre que le poids du foie des poulets supplémentés est meilleur comparé aux poulets du lot témoin 130g contre 103g respectivement à J25 ceci témoigne d'une meilleure utilisation de l'aliment et par conséquent l'amélioration de la valeur énergétique de ce dernier. En revanche à J45 on enregistre une légère baisse du poids du foie au sein du lot expérimental par rapport au lot témoin 239,5g contre 244,3 g respectivement ceci pourrait s'expliquer par l'incident du J31 (voir discussion générale).

Discussion générale

Après l'utilisation du symbiotique au sein du lot expérimental, la réduction significative de la mortalité enregistrée en faveur des poulets supplémentés par rapport aux poulets témoins, pourrait être expliquée par les bactéries bénéfiques que contient ce dernier qui ont pu contrôler la flore microbienne pathogène présente au niveau intestinal, réduisant ainsi les problèmes de diarrhée, qui représentent l'un des causes majeures responsable de mortalité. Notons que la litière était non dégradée et cela durant toute la période de l'élevage.

En contrepartie, nous remarquons que pour tous les indices zootechniques évoqués dans notre étude à savoir (poids vif du lot, gain de poids, indice de consommation, indice de conversion, taux de mortalité) une baisse des performances recrudescence est notée au sein du lot expérimental par rapport au lot témoin et ceci durant la période de croissance (J25 –J45).

Nous pouvons expliquer, les résultats non significatifs obtenus par les tests statistiques, pour les indices (poids vif du lot, gain de poids, indice de consommation, indice de conversion) par :

✚ L'erreur d'élevage :

L'erreur d'élevage en question, est un incident produit au sein du bâtiment au cours de la période d'élevage plus précisément à j31.

Notons, qu'en pleine période de croissance (J31), l'éleveur effectue un changement brusque d'aliment, basculant vers un aliment de très mauvaise qualité (aliment de finition et donc faible teneur en protéines brutes), un aliment qui avait été stocké dans de très mauvaises conditions.

Ainsi, le lot expérimental s'est vu le plus touché par cet incident, vu une consommation d'aliment plus rapide signalée chez ce dernier (épuisement du stock d'aliment de bonne qualité initial), et donc les poulets du lot expérimental se sont tournés vers le nouvel aliment qui s'est révélé difficilement digestible.

Rapidement une baisse de consommation importante a été notée chez le lot expérimental par rapport au lot témoin (consommation alimentaire moins rapide et donc présence de l'aliment initial). Cette baisse de consommation qui a touché les poulets du lot expérimental et

qui a duré presque 48h s'est révélée fatal surtout que ces derniers étaient en pleine période de croissance J31 (période décisive en élevage avicole).

Au bout de 72h, l'aliment a vite été changé par le vétérinaire traitant, un autre a été distribué pour toute la bande (témoin et expérimental). Au même moment une antibiothérapie de 4 jours a été lancée (Neomycine, Oxytétracycline et vit D) en gardant toujours le protocole de la supplémentation en symbiotique.

La taille de l'échantillon

L'effectif du poulet total utilisé pour cet essai est de 1540 au sein de chaque lot (témoin et expérimental). Cependant, la taille de l'échantillon pris pour le calcul des paramètres zootechniques semble insuffisante ($n=30$). La littérature préconise un échantillon de 10% par rapport à l'effectif global et donc qui devrait être égal pour notre étude à 154 sujets ($n=154$).

Face à l'essai des symbiotiques, les résultats restent différents selon les expérimentations, ceci pourrait s'expliquer par la variabilité des souches probiotiques contenues, les conditions d'expérimentations au sein des élevages, la taille de l'échantillon, la souche aviaire utilisée, ainsi que les régimes alimentaires (composition de la ration).

En effet, les probiotiques sont capables de contrôler, le portage et la dissémination d'agents pathogènes et zoonotiques et peuvent également contribuer à potentialiser l'aliment et donc la rentabilité de l'élevage (Trufanov *et al.*, 2008, Niderkorn *et al.*, 2009). De nombreux travaux ont montré, en plus de l'efficacité zootechnique (Simon *et al.*, 2005, Vitorrio *et al.*, 2005), leurs effets bénéfiques sur la santé des volailles (Awaad *et al.*, 2005, Vandeplas *et al.*, 2009, Higgins *et al.*, 2010). L'amélioration des performances zootechniques par orientation de la flore a été rapportée par de nombreux auteurs (Çabuk *et al.*, 2004, Alfaro *et al.*, 2007), mais les résultats concernant leur efficacité ne sont pas cohérents (Zhang *et al.*, 2005).

II. Bactériologie :

II. 1. Isolement et identification des *E.coli* :

II. 1.1. Lot témoin

Sur les 20 sujets autopsiés, 12 souches ont été isolées soit un taux de 60% dont 11 isolats *d'E.coli* avec un taux de 55% et une souche de *serratia marcescens* avec un taux de 5%, pour les 8 sujets restants soit un taux de 40% la culture s'est révélée négative aucune poussée n'a été enregistrée. (Figure 35)

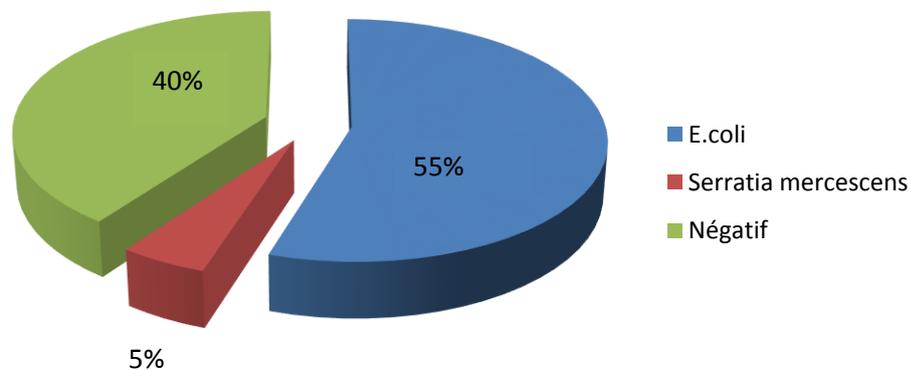


Figure 35 : Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin

II. 1.2. Lot expérimental

Sur les 20 sujets autopsiés, également 12 souches ont été isolées soit un taux de 60% dont 11 isolats *d'E.coli* avec un taux de 55% et une souche de *Proteus mirabilis* avec un taux de 5%, pour les 8 sujets restants soit un taux de 40% la culture s'est révélée négative (figure 36)

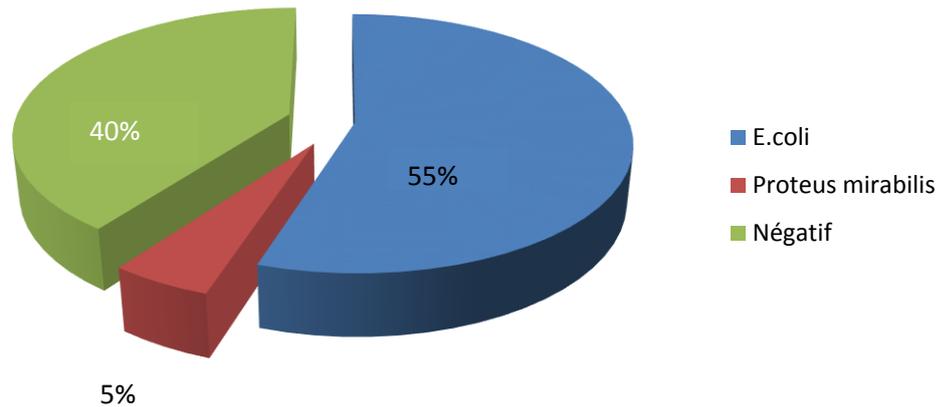


Figure 36 : Pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental

Nous pouvons expliquer l'absence de différence pour le taux des souches *E.coli* isolées à partir des deux lots à savoir le lot témoin et le lot expérimental par le fait que les deux lots étaient au sein du même élevage et soumis aux mêmes conditions d'élevage.

Sachant que le lot expérimental avait subi une addition en produit symbiotique, l'incident qui s'est produit à J31 avec un changement brusque vers un aliment de mauvaise qualité, ajouter à cela que les animaux du lot expérimental étaient les plus touchés par ce stress (expliquer précédemment) ceci a pu engendrer une baisse de l'immunité et donc une multiplication des germes.

II. 2. Isolement et identification des salmonelles :

II. 2. 1. Lot témoin

Sur les 20 sujets autopsiés, 13 souches ont été isolées soit un taux de 65%, dont 11 isolats d'*E.coli* avec un taux de 55% et 2 souches de *Serratia marcescens* avec un taux de 10%, pour les 7 sujets restants soit un taux de 35% la culture était négative c'est-à-dire aucune poussée n'a été observée (figure 37).

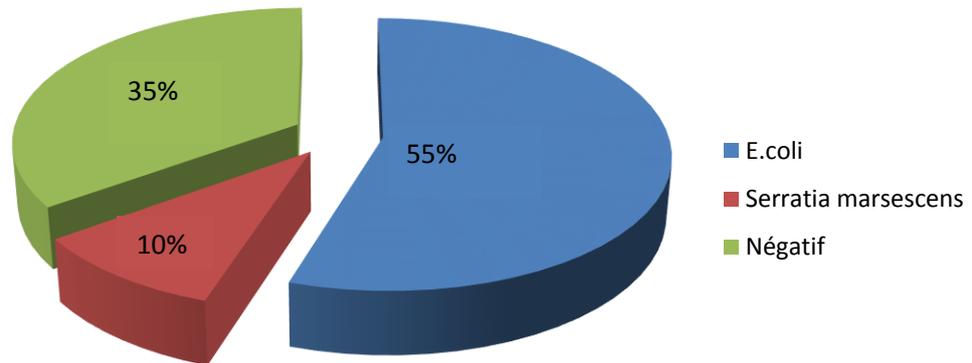


Figure 37: Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin

II. 2.2. Lot expérimental

Sur les 20 sujets autopsiés, 15 souches ont été isolées soit un taux de 75% , dont 13 isolats d'*E.coli* avec un taux de 65% , une souche *serratia marcescens* avec un taux de 5% et une souche *Proteus mirabilis* avec un taux de 5%, pour les 5sujets restants la culture s'est révélée négative avec un taux de 25% (figure 38).

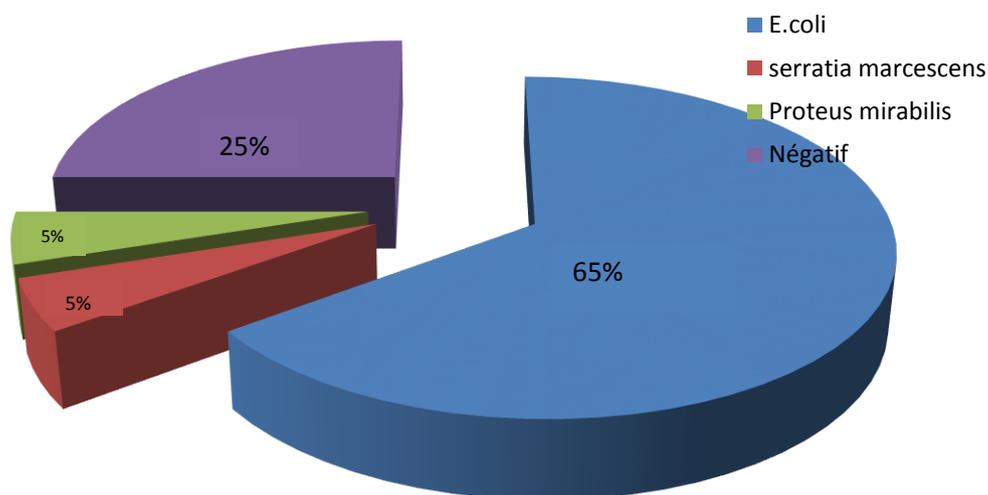


Figure 38: pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental.

Nous pouvons expliquer l'absence des souches salmonelles malgré le fait qu'on les a favorisé (protocole salmonelles dans partie méthodes) que notre élevage a subit une

désinfection rigoureuse ainsi que l'utilisation du symbiotique qui régule la flore digestive par la présence de bactéries bénéfiques réduisant le pH du contenu intestinal agissant ainsi contre la prolifération des bactéries pathogènes.

II. 3. AntibioGramme :

Onze antibiotiques sont testés sur toutes les souches *Escherichia coli* isolées.

Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec la table de lecture des entérobactéries (vétérinaire) selon les recommandations du standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6^{ème} édition (2011).

Les résultats de l'antibiogramme des souches *Escherichia coli* isolées des foies des sujets pour le lot témoin et expérimental sont présentés dans le tableau 21 et la figure 39

Le tableau 21 et la figure 39 montrent les pourcentages de résistances des souches *E.coli* isolées dans notre étude pour le lot témoin et le lot expérimental :

Tableau 21: Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *E.coli* isolées.

		Lot témoin		Lot expérimental	
Famille	Antibiotiques testés	Pourcentage de résistance (%)		Pourcentage de résistance (%)	
		R+I	S	R+I	S
Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique	73,67	26,31	94,11	5,88
	Ampicilline	84,21	21,05	94,11	5,88
Cyclines	Tétracycline	89,47	10,52	70,58	29,41
Quinolones	Acide Nalidixique	84,2	15,78	94,11	5,88
	Enrofloxacin	78,94	21,05	64,7	35,29
Sulfamides	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	78,94	21,05	94,11	5,88
Aminosides	Gentamicine	10,52	94,73	5,88	94,11
	Néomycine	68,41	31,57	88,23	11,76
Polypeptides	Colistine sulfate	0	100	0	100
Furanes	Nitrofurantoine	26,31	73,68	35,29	64,70
Phénicolés	Chloramphénicol	21,04	78,94	82,35	47,05*

Test KHI² ; * Taux significativement élevé (P<0,05) sur une même ligne.

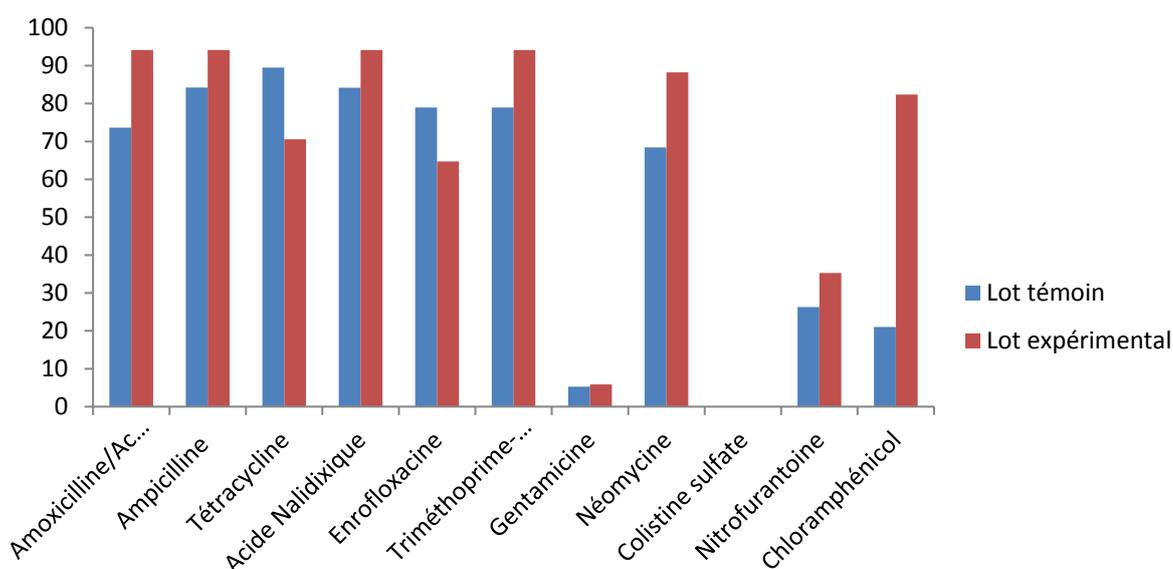


Figure 39 : Pourcentages des résistances des souches *E.coli* entre le lot témoin et le lot expérimental.

Vue la diversité des pourcentages, les résultats sont classés en trois groupes. Comme préconisé par Saberfar et al. (2008).

- Les antibiotiques pour lesquels de très hauts niveaux de résistance sont observés (de 70 à 100) sont compris dans le Groupe I. Ces antibiotiques sont par ordre décroissant : Amoxicilline/ Acide clavulanique (94%), Ampicilline (94%), Triméthopri... Sulfaméthoxazole (94%). Acide nalidixique (94%), Néomycine (88%) Tétracycline (84%), Chloramphénicol (82%), Enrofloxacin (79%).

-Le Groupe II comprend des antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (de 30 à 70%) sont obtenus. Ce sont : les Nitrofuranes (35%).

-Le Groupe III comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance (de 0 à 30%) sont notés. Ce sont : Gentamicine (5,88%), Colistine (0%).

Dans cette étude, il ressort clairement que les molécules les plus efficaces contre les colibacilles sont celles qui sont classées dans le Groupe III, avec des taux de sensibilité plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Le taux de sensibilité est de 100% pour la Colistine, de 94,12% pour la Gentamicine.

II. 4. Résistances individuelle par famille d'antibiotiques

II.4.1. β -lactamines

Les résultats mettent en évidence une forte résistance des *E. coli* à cette famille d'antibiotiques, avec un taux de 94% pour l'Amoxicilline/Acide clavulanique chez le lot expérimental contre 74% pour le lot témoin, et de 94% enregistré pour l'ampicilline chez le lot expérimental contre 84% relevé chez le lot témoin.

Dans notre étude, pour l'Amoxicilline/Acide clavulanique la différence enregistrée entre les deux lots (témoin et expérimental) est non significative $P > 0,05$. Ceci dit nos résultats sont élevés par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) dans la région ouest d'Algérie (47%) et ceux de Bouzagh (2010) au centre d'Algérie (60%) ainsi, que ceux de Zharai et Farashi (2006) en Iran (53%).

Aussi pour l'ampicilline, la différence de pourcentage entre les deux lots (témoin et expérimental) est non significative $P > 0,05$, nos résultats vis-à-vis de cet antibiotique sont élevés par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) dans la région ouest d'Algérie (47%) ainsi, que ceux de Blanco et al (1997a) en Espagne (35%) et ceux de Amara (1986) au Maroc (20%) et Zharai et Farashi (2006) en Iran (47%) ainsi, que ceux de Zhao et al (2005) aux USA (45%).

Ces taux élevés de résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline / Ac clavulanique et de l'Ampicilline sont probablement liés à l'utilisation abusive et anarchique des β -lactamines dans les élevages avicoles sans avis de vétérinaire. Il existe une diversité de mécanismes de résistances du germe vis-à-vis de cette famille, soit par diminution de l'affinité du β -lactame vis-à-vis des PLP et la diversité des mécanismes de résistance des *E.coli* vis-à-vis de cette famille comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), soit par production de β -lactamases comme rapporté par Quintiliani et Courvalin (1995).

II.4.2. Les Tétracyclines :

Pour cette famille d'antibiotique, un taux de résistance de 89% est enregistré au sein du lot témoin contre un taux de 70% pour le lot expérimental. Cependant cette différence reste statistiquement non significative $P > 0,05$.

Nos résultats sont inférieurs à ceux de Messai et al (2013) dans la région est de l'Algérie (98,3%). Mais ils sont supérieurs à ceux de Hammoudi et Aggad (2008) dans la région ouest de l'Algérie (82%) et ceux d'Amara (1986) au Maroc avec un taux de (82%) et Filali (1988) au Maroc (81%).

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, autant en thérapie que préventivement, ces molécules ont une activité bactériostatique et ils ont une bonne diffusion tissulaire et intracellulaire comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), ils ont aussi été utilisés en tant que "facteurs de croissance", engendrant des résistances très élevées en aviculture. La persistance et l'augmentation croissante de cette résistance sont attribuées, en partie, à l'usage intempestif de cette famille d'antibiotiques à large spectre, mais également à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine, et à des doses souvent sub-thérapeutiques, en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance et d'améliorer le rendement. Cette dernière possibilité est évoqué ya plus de 50 ans, comme cause probable de l'apparition des souches résistantes comme rapporté par Abdennebi (2006).

II.4.3. Les sulfamides

En thérapeutique, les sulfamides se retrouvent dans trois classes médicamenteuses : les anti- infectieux, les antidiabétiques oraux et les diurétiques.

Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole, connue sous le nom commercial de Bactrim®.

Nous avons enregistré pour cet antibiotique un taux de résistance de 78% au sein du lot témoin contre 94% au sein du lot expérimental cet écart était statistiquement non significatif $P > 0,05$.

Nos résultats sont élevés par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) dans la région ouest de l'Algérie ou ils ont enregistré un taux de 42%, ils sont également supérieurs à l'étude de Ammar Ahmed (2009) dans l'ouest Algérien avec un taux de 70%, ainsi que celle

de Blanco et al (1997a) en Espagne (63%) et Yang et al (2004) en Chine(63%). Cependant, nos résultats sont inférieurs à ceux de Bouzagh (2010) au centre d'Algérie (96,4%).

Leur spectre d'action, théoriquement large, englobe la majorité des espèces bactériennes à Gram + et à Gram -

Les taux importants enregistrés, autant dans notre étude que par d'autres auteurs, est probablement la conséquence de la très importante prescription de cet anti-infectieux, utilisé notamment dans la prévention contre les salmonelles, et aussi lors de coccidioses. Cette molécule est utilisée quasi-systématiquement en association avec des anticoccidiens dans le traitement et la prévention de ces dernières, conduisant ainsi à son inefficacité contre les colibacilles.

II.4.4. Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, quinolone de première génération, et l'enrofloxacin, quinolone de troisième génération. Les taux de résistance pour l'acide nalidixique sont de 84% pour le lot témoin contre 94% pour le lot expérimental avec une différence révélée non significative $P>0,05$, et de 78% chez le lot témoin contre 64% chez le lot expérimental pour l'enrofloxacin révélée également non significative $P>0,05$.

Pour l'Acide nalidixique, nos résultats sont supérieurs par rapport aux résultats de Bouzagh (2010) dans la région centre d'Algérie (48%) et de Blanco et al (1997a) en Espagne (48%) ainsi, que ceux de Zhao et al (2004) aux USA (59%). Cependant ils sont inférieurs à ceux de Messai (2013) dans la région est de l'Algérie (96%) ainsi, que ceux de Zharai et Farashi (2006) en Iran qui ont enregistré un taux de résistance de 100%.

Pour l'Enrofloxacin, nos résultats sont supérieurs par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) et ceux de Ahmed et Ammar (2009) dans l'ouest de l'Algérie avec des taux de 6% et 45% respectivement ainsi, que ceux de Blanco et al (1997a) en Espagne (18%) et Amara (1992) au Maroc (23%). Cependant ils sont intermédiaires par rapport à l'étude de Messai (2013) dans la région est de l'Algérie (72%) mais sont inférieurs à ceux de Yang et al en Chine (90%) et Kim et al (2007) en Corée (92%).

La résistance aux quinolones est exclusivement liée à des mutations chromosomiques :

- Mutations sur les gènes codant pour les topo-isomérases, entraînant une perte d'affinité de l'enzyme pour les quinolones ;
- Augmentation du transport actif de l'antibiotique hors de la bactérie comme signalé par Gaudy et Buxéraud (2005) et Nauciel et Vildé (2008).

Ces taux très élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques peuvent être expliqués, d'une part, par la forte utilisation de ces molécules en raison de leur grande disponibilité sur le marché algérien, et surtout par la présence de génériques à prix très abordables, alors qu'il y a quelques années, il n'existait que la molécule mère, très onéreuse ; d'autre part au fait que les quinolones partagent un seul et même mécanisme d'action.

Selon Baucheron *et al.* (2003), deux mutations dans le gène *gyrA* et une ou deux mutations dans le gène *parC* au niveau de la région QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) chez les souches *E. coli* d'origine aviaire, confèrent un haut niveau de résistance vis-à-vis de l'acide nalidixique et de l'enrofloxacin.

II.4.5. Les aminosides

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules de cette famille d'antibiotiques, que sont la néomycine, et la gentamicine.

Pour la néomycine. Nos résultats révèlent un taux de résistance de 68% au sein du lot témoin contre 88% au sein du lot expérimental, notons que cette différence est statistiquement non significatif $P > 0,05$. Ces résultats ce sont révélés supérieurs à ceux de Bouzagh (2010) au centre d'Algérie (12%) et ceux de Filali (1986) au Maroc (4%). Cependant ils restent intermédiaire par rapport à l'étude de Messai (2013) dans la région est de l'Algérie ou il a enregistré un taux de 75%.

Pour la Gentamicine, nos résultats révèlent un taux de résistance de 10,52% au sein du lot témoin contre un taux de 5,88 au sein du lot expérimental, notons que cette différence est non significative $P > 0,05$. Ces résultats sont supérieurs à ceux de Messai (2013) dans la region est de l'Algérie (5,5%). Cependant ils restent inférieurs par rapport à l'étude de Blanco *et al*

(1997a) en Espagne ou ils ont enregistré un taux de 14% ainsi que l'étude de Zhao et al (2005) aux USA (69%).

La forte sensibilité des souches *E.coli* vis-à-vis de la gentamicine est due au non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles d'où un taux de résistance très faible.

En pratique, il existe des contraintes quant à son utilisation : dans certains pays, comme l'Iran, la gentamicine n'existe que sous la forme injectable (très récemment en poudre), forme intéressante pour les éleveurs car l'administration de ce produit requiert une main-d'œuvre spécialisée qui coûte cher. De plus, la manipulation des sujets provoque un stress et peut rendre la situation délicate. Les injections ne sont pas tolérées chez le poulet, spécialement lors de colibacillose, comme rapporté par Saberfar et al. (2008).

II.4.6. Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine, les résultats indiquent une résistance nulle avec un taux de **0%** pour les deux lots (témoin et expérimental).

Ces résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par Hammoudi et Aggad (2008) dans la région ouest d'Algérie 3% et de Messai et al (2013) dans la région Est d'Algérie avec 5.5 % ainsi, que ceux de Bouzagh 2010 au centre d'Algérie (14,5%) et Ahmed Ammar (2009) dans l'ouest Algérien avec un taux de 13%.

Ce taux nul de résistance peut être expliqué par l'utilisation modérée de cette molécule en élevage avicole dans la région étudiée car elle ne franchit pas la barrière intestinale et est donc inactive *per os* sur les colibacilles systémiques. Elle est cependant utilisée en association avec les β -lactamines car cette association procure un effet synergique, et peut aider à la maîtrise des colibacilles pathogènes respiratoires encore en situation intestinale.

II.4.7. Les phénicolés

La sensibilité des souches *E. coli* isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nos résultats évoquent un taux

de résistance de 21% pour le lot témoin contre 82% pour le lot expérimental, cette différence enregistrée s'est révélée statistiquement significative $P < 0,05$.

Nos résultats sont supérieurs par rapport à l'étude de Zhao et al (2005) aux USA (11%) et Kim et al en Corée 2007 avec un taux de 9%. Cependant, les résultats obtenus par Messai en 2013 dans la région est d'Algérie sont intermédiaires par rapport à notre essai (45%).

Ce médicament n'est plus sur le marché officiel. Ce taux élevé serait donc le fait de la persistance d'une résistance acquise antérieurement, ou d'une résistance *croisée*

II.4.8. Les furanes

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis du nitrofurane, pour cet antibiotique un taux de 26% a été enregistré au sein du lot témoin et 35% au sein du lot expérimental. Cet écart enregistré entre les deux lots (témoin et expérimental) est non significatif $P > 0,05$.

Nos résultats sont supérieurs à l'étude de Messai (2013) dans la région est de l'Algérie avec un taux de 18% et l'étude de Bouzagh (2010) dans la région centre d'Algérie (21%). Cependant ils restent inférieurs par rapport aux résultats de Amara 1986 au Maroc qui a enregistré un taux de 64% et Blanco et al (1997a) en Espagne (49%) ainsi que l'étude de Zharaei et Farashi (2006) en Iran avec un taux de 56%.

Cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire et n'ayant été à aucun moment administré lors de cette étude, tout laisse supposer que la résistance observée est le fruit d'une résistance croisée. Elle aurait dans ce cas un support plasmidique du fait de l'émergence rapide de souches porteuses de plasmides de multirésistance aminoglycoside et Nitrofurane, ou, comme indiqué précédemment, en raison d'une utilisation illégale.

Les taux de résistances élevés enregistrés au sein du lot expérimental par rapport au lot témoin ce sont avérés statistiquement non significatifs sauf pour le chloramphénicol ou le taux de résistance relevé au niveau des poulets supplémentés est significatif par rapport aux poulets témoins ($P < 0,05$).

Au final, d'après les résultats des antibiorésistances obtenus au sein des deux lots nous pouvons probablement dire que la supplémentation en symbiotique n'a eu aucun effet sur les bactéries intestinales c'est-à-dire que la résistance des bactéries aux antibiotiques n'a pas été influencé par le produit symbiotique.

II. 5. Les multirésistances :

II. 5.1. lot témoin

Les taux de multirésistances sont présentés dans le tableau 22 et illustrés dans la figure 40

Le tableau 22 et la figure 40 montrent que parmi les 19 souches isolées, il n'existe aucune souche qui ne soit résistante à aucun antibiotique, les 19 souches sont toutes résistantes à au moins deux antibiotiques avec un taux de 100%.

Alors que 94,73% sont résistantes à au moins 3 antibiotiques, 73,68% à au moins 4 antibiotiques. 63,15% à au moins 5 antibiotiques, 31,57% à au moins 6 antibiotiques, 21, 05% à au moins 7 antibiotiques, 5,26% à au moins 8 antibiotiques et 9 antibiotiques.

Mais il n'existe pas de souches qui sont résistantes à 10 et 11 antibiotiques et donc un taux de 0% pour 10 et 11 antibiotiques.

Tableau 22: Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* aux antibiotiques (lot témoin)

Nombre des antibiotiques	Nombre des souches	Le pourcentage %
0	0	0
1	0	0
2	1	5,26
3	4	21,05
4	2	10,52
5	6	31,57
6	2	10,52
7	3	15,78
8	0	0
9	1	5,26
10	0	0
11	0	0
Total	19	100

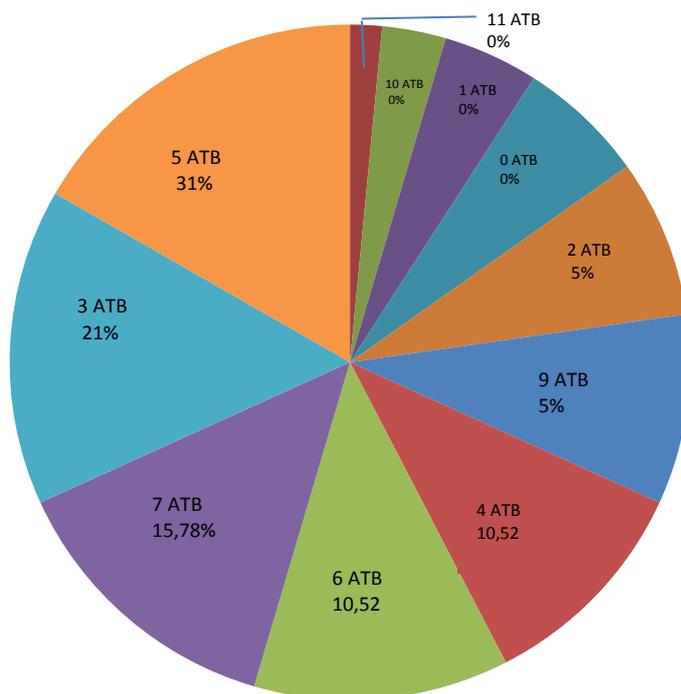


Figure 40: Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* isolées pour le lot témoin

II. 5.2. Lot expérimental

Les taux de multirésistances pour le lot expérimental sont présentés dans le tableau 23 et la figure 41

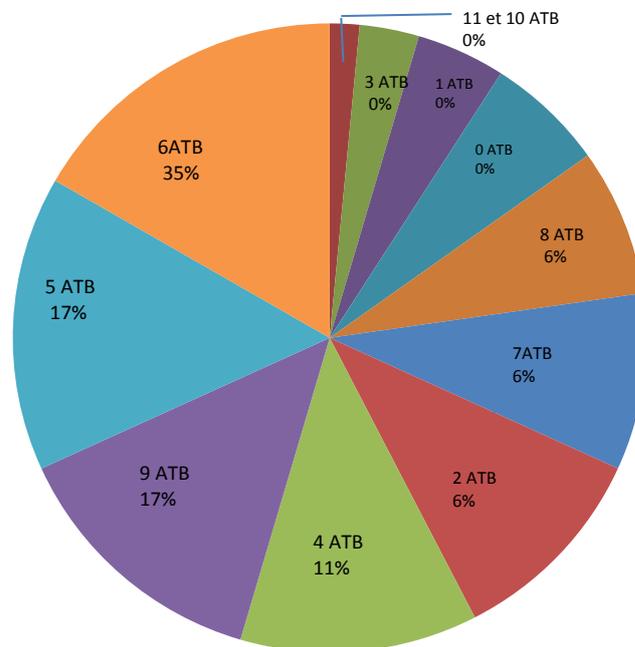
Le tableau 23 et la figure 41 montrent que parmi les 17 souches isolées, il n'existe aucune souche qui ne soit résistante à aucun antibiotique, les 17 souches sont toutes résistantes à au moins deux antibiotiques avec un taux de 100%.

Alors que 94,11% sont résistantes à au moins 3 antibiotiques et 4 antibiotiques, 82,35% à au moins 5 antibiotiques. 64,70% à au moins 6 antibiotiques, 29,41% à au moins 7 antibiotiques, 23,52% à au moins 8 antibiotiques, 17,64% à au moins 9 antibiotiques.

Mais il n'existe pas de souches qui sont résistantes à 10 et 11 antibiotiques et donc un taux de 0% pour 10 et 11 antibiotiques.

Tableau 23: Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* (lot expérimental)

Nombre des antibiotiques	Nombre des souches	Le pourcentage %
0	0	0
1	0	0
2	1	5,88
3	0	0
4	2	11,76
5	3	17,64%
6	6	35,29
7	1	5,88
8	1	5,88
9	3	17,64
10	0	0
11	0	0
Total	17	100

**Figure 41:** Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* isolées pour le lot expérimental

Pour le lot témoin les forts pourcentages de multirésistances sont enregistrés vis-à-vis de 5, 3 et 7 antibiotiques avec des pourcentages de 31,57%, 21,05%, 15,78% respectivement alors

que pour le lot expérimental les forts pourcentages de multirésistances sont enregistrés vis-à-vis de 6, 9 et 5 et 4 antibiotiques avec des pourcentages de 35,29% , 17,64% et enfin 11,76% respectivement.

Cette forte multirésistance peut être due à l'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques dans le secteur avicole, sans recours à l'antibiogramme.

Cependant nous pouvons aussi expliquer les forts taux de multirésistances enregistrés dans le lot expérimental par apport au lot témoin par le changement brusque d'alimentation qui a été effectué à J31.

Notons, que l'aliment qui a été donné ce jour-là était un aliment de très mauvaise qualité, stocké dans de mauvaises conditions représentant un aliment de finition et donc un aliment pauvre en protéines brutes.

Aussi, il est important de signaler, que les animaux étaient en pleine période de croissance (période critique), et donc comparé aux poulets du lot témoin qui eux avaient toujours leur ancien stock d'aliment, au sein des poulets du lot expérimental, nous avons noté une baisse considérable de consommation qui a duré presque 48h ce qui a affaibli les poulets entre autre leur système immunitaire, favorisant en contrepartie la croissance des bactéries pathogènes, leur prolifération ainsi que l'expression de leurs gènes de résistances.

Lafont *et al.* (1984), et Chulasiri et Suthienkul (1989) rapportent que les caractéristiques des souches *E. coli* aviaires sont souvent identifiées chez d'autres souches *E. coli* isolées d'autres animaux. De ce fait, les souches *E. coli* aviaires peuvent être une source potentielle de transmission de gènes et plasmides qui codent pour la résistance aux antibiotiques, ainsi que des facteurs de virulence.

Cette forte multirésistance est inquiétante car elle présente un énorme risque pour l'élevage avicole lors de transmissions plasmidiques des résistances d'une bactérie à une autres, d'où des échecs aux traitements, et par conséquent diminution de la production à cause de taux de morbidité et de mortalité élevés.

II. 6. Les antibiotypes (Les profils de résistances, Phénotypes)

II. 6.1. Lot témoin

Dans notre étude, 18 antibiotypes différents sont isolés, dont les plus importants sont rapportés dans le tableau 24 :

Tableau 24 : Principaux antibiotypes d'*E.coli* isolés à partir du lot témoin

Antibiotype	Désignation	Nombre de souches	Pourcentage %
AUG- AMP- NA- LE-TE - COT –K	A	2	10,52 %
AUG- AMP- NA- LE- TE- COT- K- F- C	B	1	5,26 %
AUG- AMP- NA- LE- TE- COT- GEN	C	1	5,26 %
AUG- AMP- NA- LE- TE- COT	D	1	5,26 %
AMP- NA-LE- TE- K	E	1	5,26 %
AMP -NA-LE- TE – K- COT	F	1	5,26 %
AMP- NA- TE- K- COT	G	1	5,26 %

Parmi les 18 profils de multirésistance obtenus dans notre étude, 7 désignés de A à G attirent l'attention particulièrement, dont le plus important est le profil A avec 10,52%, le reste des profils à savoir B, C, D, E, F, G avec un taux de 5,26%.

II. 6.2. Lot expérimental

Pour le lot expérimental, 11 antibiotypes différents sont isolés, dont les plus importants sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 25 : Principaux antibiotypes isolés à partir du lot expérimental

Antibiotype	Désignation	Nombre de souches	Pourcentage %
AUG- AMP- COT- NA- LE-TE –K- F- C	A	3	17,64 %
AUG- AMP- COT- NA- LE- TE-K-GEN	B	1	5,88 %
AUG- AMP- COT- NA- LE- TE	C	2	11,76 %
AUG- AMP-COT- K- C	D	2	11,76 %
AMP- COT- K- NA- LE- TE	E	2	11,76 %
AMP -COT-K- C	F	2	11,76 %
AMP- COT-K- F- NA- LE- TE	G	1	5,88 %

Parmi les 11 profils de multirésistance obtenus dans notre étude, 7 désignés de A à G ont été choisis, dont le plus intéressant est le profil A avec 17,64%, pour les profils C, D, E, F nous avons obtenu un taux de 11,76 %, et pour les profils restant à savoir B et G un taux de 5,88% a été enregistré.

Ces résultats reflètent l'utilisation abusive et anarchique de ces produits en raison de leur large disponibilité sur le marché algérien, en l'absence de législation réglementant leur utilisation à titre thérapeutique et préventif. Ainsi, plusieurs antibiotiques sont utilisés couramment à titre préventif et curatif, sans recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre le germe en cause.

Ces souches peuvent transférer leur large phénotype d'antibiorésistance par transmission verticale à leur descendance et par transmission horizontale à des espèces différentes de bactéries via l'échange de matériel génétique, permettant la diffusion de ces profils et réalisant la transmission épidémique de cette multirésistance, d'une part. D'autre part, la contamination de l'homme par ces bactéries multirésistantes (par exemple lors d'opération d'abattage) constituera l'une des causes majeures des difficultés de traitement chez l'homme.

Van Den Bogaard et al. (2001) ont isolé des souches *E. coli* chez les humains qui travaillent en promiscuité avec les oiseaux, exprimant les mêmes antibiogrammes que les souches aviaires. Cette trouvaille indique que la transmission de la résistance des souches aviaires aux souches humaines est possible.

Aussi, pour le **lot témoin**, nous mettons en évidence une co-résistance vis-à-vis de 6 molécules d'antibiotiques à savoir Amoxicilline/ Ac clavulanique, Ampicilline, Acide nalidixique, Enrofloxacin, Tétracycline, Triméthoprime/ sulfaméthoxazole (AUG- AMP- NA- LE- TE- COT) et donc 26,31% de nos souches expriment cette co-résistance, elle est présente chez les souches *E.coli* qui ont les profils de multirésistance les plus importants : A, B, C, D.

Alors que pour le **lot expérimental**, nous mettons en évidence également une co-résistance vis-à-vis de 6 molécules d'antibiotiques à savoir Amoxicilline/ Ac clavulanique, Ampicilline, Triméthoprime/ sulfaméthoxazole, Acide nalidixique, Enrofloxacin, Tétracycline (AUG-

AMP- COT- NA- LE- TE) et donc 35,29% de nos souches expriment cette co-résistance, à savoir les souches *E.coli* représentés par les désignations A,B,C.

Nous pouvons expliquer le taux légèrement élevé de co-résistance enregistré au sein du lot expérimental qui est de 35,29% par rapport au lot témoin 26,31%, par l'épisode dont l'élevage a dû faire face à J31.

Les résultats enregistrés ci-dessus ont été rapportés à J25 et J45, notons que l'erreur d'élevage s'est produite au 31^{ème} jours ce qui avait affecté énormément les animaux à cette période surtout sur le plan métabolique et immunitaire.

Selon Courvalin (2008), la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection : une classe d'antibiotiques à laquelle la bactérie est résistante pourra sélectionner la résistance à des classes d'antibiotiques non reliées, engendrant ainsi un large phénotype résistant de la bactérie.

II. 7. L'étude BLSE

Sur les 40 sujets autopsiés, 52 souches ont été isolées dont 46 *E.coli*. 7 parmi les 52 se sont révélées résistantes à au moins une céphalosporine de 3^{ème} génération « CEFOTAXIME » (profil BLSE) avec une prévalence de 13%. Notons que la totalité de ces souches BLSE ont été isolées à J25.

Dans notre étude, les souches présentant un profil BLSE, sont des souches qui ont été identifiées chez l'espèce *E.coli* avec une prévalence de 86% mais également chez l'espèce *Serratia marcescens* avec une prévalence de 14%.

Après la recherche des souches BLSE par la technique décrite dans la partie méthode, les résultats de notre étude, démontrent une seule souche BLSE confirmée puisque, cette dernière s'est révélée positive au test de synergie « test de recherche des BLSE » ainsi, qu'au test du

double disque qui est le test de confirmation. Au final la prévalence des souches BLSE positive pour notre expérimentation est de 14%

II. 8. Effet du symbiotique sur la flore coliforme intestinale

Les résultats relatifs aux dénombrements des coliformes totaux et fécaux ainsi que les *Escherichia coli* chez les poulets témoins et ceux supplémentés en symbiotique évalués à J45 dans les fientes, sont rapportés dans le tableau 26 et la figure 42.

Tableau 26 : Nombre de coliformes (totaux et fécaux) ainsi que les *E.coli* dénombré au niveau des fientes à J45, chez les poulets témoins (lot témoin) et ceux supplémentés en symbiotique (lot expérimental).

	Lot Témoin	Lot Expérimental
Dénombrement des coliformes (Totaux et Fécaux) et les <i>E.coli</i> à J45 (log de 25 UFC/ g)		
Coliformes Totaux	10,60	10,70
Coliformes Fécaux	10,63	10,79
<i>Eschérichia coli</i>	10,72	10,78

UFC : Unité formant colonies.

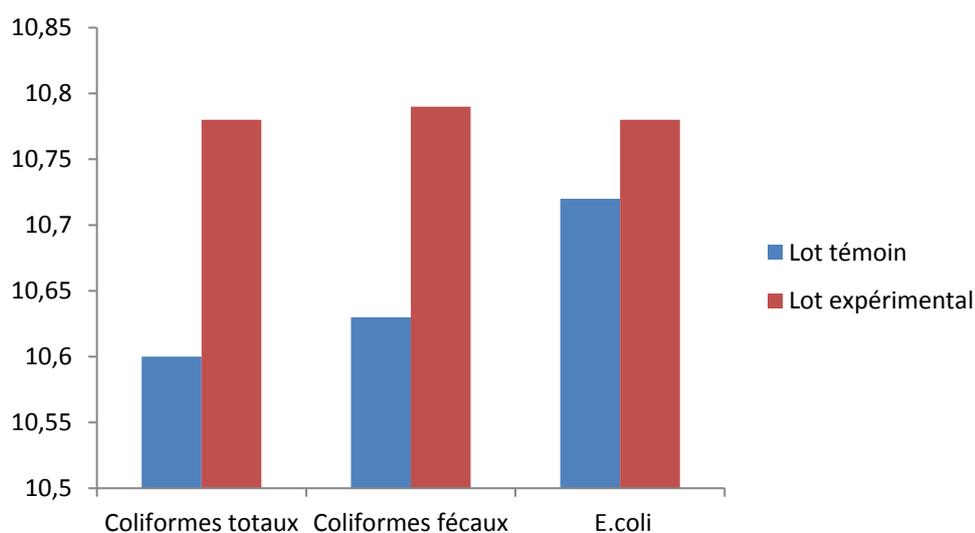


Figure 42 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur la flore coliforme à J45.

II.8.1. Comparaison entre le lot témoin et le lot expérimental

Pour les coliformes totaux et fécaux, les résultats enregistrés révèlent une très légère augmentation chez les poulets du lot expérimental comparé aux poulets du lot témoin, 10,70 UFC/ 25g contre 10,60 UFC/ 25g respectivement pour les coliformes totaux.

Egalement pour les coliformes fécaux, nous avons enregistrés une très légère augmentation au sein du lot expérimental par rapport au lot témoin, 10,79 UFC/ 25g contre 10,63 UFC/ 25g respectivement, comme le montre le tableau 26 et illustre la figure 42.

Pour les *Escherichia coli*, l'augmentation du nombre de colonies a été rapportée chez les poulets supplémentés (lot expérimental) avec 10,78 UFC/ 25g comparé aux sujets témoins (lot témoin) 10,72 UFC/ 25 g.

II.8.2. Comparaison entre les deux lots (témoin et expérimental) et la norme

II.7.2.1. Coliformes totaux et fécaux

Dans nos conditions expérimentales, nos résultats obtenus

✚ Les coliformes totaux

Pour le lot témoin : $4,05 * 10^{10}$

Pour le lot expérimental : $6,13 * 10^{10}$

✚ Les coliformes fécaux

Pour le lot témoin : $4,29 * 10^{10}$

Pour le lot expérimental : $6,26 * 10^{10}$

Ces résultats se révèlent supérieurs à la norme maximale recommandée au niveau du contenu intestinal qui de 10^7 coliformes/g de produit.

II.7.2.2. Escherichia coli

Les résultats obtenus pour le dénombrement des *Escherichia coli* :

Pour le lot témoin : $5,28 * 10^{10}$

Pour le lot expérimental : $6,11 * 10^{10}$

Ces résultats sont supérieurs au seuil maximal recommandé au niveau intestinal qui se situe entre 10^6 - 10^8 E.coli/g de produit en se référant à la norme AFNOR (NF V08 -060).

Nous expliquons, cette légère hausse signalée chez les poulets supplémentés du lot expérimental en comparaison avec ceux du lot témoin, par l'incident d'élevage survenu à J31 (voir discussion générale du chapitre 1).

Cet incident, a permis aux pathogènes de se développer sachant que le changement d'aliment représente un stress pour les animaux, ajouter à cela la baisse de consommation notée au sein du lot expérimental .tout ceci favorise la croissance des bactéries qui se définissent comme des microorganismes opportunistes accélérant leur multiplication dès qu'il ya une baisse d'immunité. Ceci dit cette augmentation s'est révélée sans danger majeure,

Le déséquilibre de la flore intestinale chez la volaille est responsable en premier degré de problèmes de diarrhée, or durant toute notre expérimentation nous n'avons pas noté des problèmes de diarrhées ni une litière humide. Notons, qu'une litière humide est un milieu favorable pour la fermentation microbienne et le dégagement par conséquence d'ammoniac, qui représente l'une des premières causes de maladies respiratoires chez la volaille. Cependant ce dernier s'est révélé dans les normes acceptables au sein du bâtiment (voir taux d'ammoniac dans partie méthodes)

Au final nous pouvons conclure que cette légère augmentation des coliformes rapportée chez les poulets supplémentés a été sans danger majeur. Ceci revient au symbiotique utilisé, qui par la présence de bactéries probiotiques qui en contient, a favorisé le rééquilibre du milieu intestinal.

II. 9. Effet du symbiotique sur la flore aérobique mésophile totale (FAMT)

Le dénombrement de la flore mésophile aérobique totale (FAMT), chez les poulets témoins (lot témoin) et ceux supplémentés en symbiotique (lot symbiotique), évalué à J45 au niveau du bréchet est rapporté dans le tableau 27 et la figure 43.

Tableau 27 : Nombre de colonies représentant la FAMT mesuré au niveau du bréchet, à J45 pour les poulets témoin (lot témoin) et ceux supplémentés (lot expérimental).

	Lot témoin	Lot expérimental
Dénombrement de la FAMT (log de 25 UFC/g) à J45		
Flore aérobie mésophile totale	6,32	4,14

UFC : Unité formant colonies

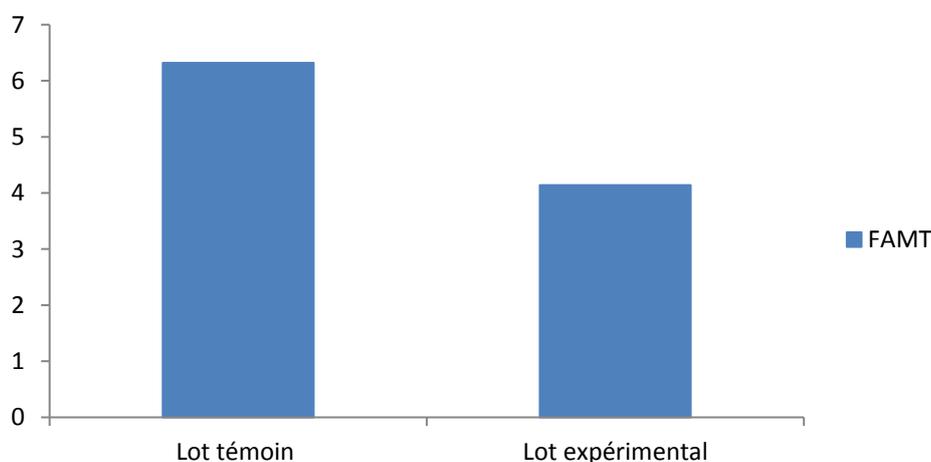


Figure 43 : Effet du symbiotique sur la flore aérobie mésophile totale à J45.

II.9.1. Comparaison entre le lot témoin et le lot expérimental

Nos résultats montrent, une baisse considérable du nombre de bactéries de la FAMT enregistrée chez le lot expérimental à J45 comparé au lot témoin : 4,14 UFC/ 25g contre 6,32 UFC/ 25g respectivement soit une baisse de 34%, ceci démontre une qualité sanitaire de viande meilleure chez les poulets supplémentés en symbiotique par rapport aux poulets témoins.

II.9.2. Comparaison entre les deux lots (témoin et expérimental) et la norme.

Les résultats obtenus pour le dénombrement de la FAMT effectué à J45 est comme suit :

Pour le lot témoin : $2,12 \cdot 10^6$

Pour le lot expérimental : $1,39 \cdot 10^4$

Ces résultats se révèlent bon comparé au seuil maximal toléré dans la viande et qui fixé à 10^7 UFC/g .

Notre étude démontre, une meilleure qualité sanitaire de la viande au sein du lot expérimental, comparé à la viande du lot témoin, ceci est expliqué par l'effet des bactéries probiotiques utilisées, ces dernières agissent au niveau intestinal et participent à l'équilibre de la flore en favorisant la croissance des bactéries bénéfiques pour l'hôte et cela en créant par différents mécanismes un environnement défavorable à la survie des bactéries pathogènes.

Notons qu'un environnement intestinal stable et équilibré améliore l'état de santé de l'hôte et par conséquent son système immunitaire qui devient plus performant comme le révèle l'étude de Kobayashi et al 2002 avec l'utilisation d'une souche de *Bifidobacterium thermophilum* ou ils ont démontré une protection vis-à-vis d'une infection expérimentale par *Escherichia coli* (effet immunostimulateur) ceci confirme une meilleure réponse immunitaire systémique par le biais de la stimulation de l'évolution des IgM en IgG (Sato et al., 1986) et donc une neutralisation systémique perpétuelle des bactéries

Ces résultats rejoignent l'explication avancée concernant le dénombrement des coliformes. Notons que le dénombrement des coliformes s'est révélé plus important chez les poulets supplémentés en comparaison avec les poulets témoins, cependant cette élévation est restée sans danger majeur et ceci est appuyé par les résultats obtenus pour la FAMT qui confirment une meilleure qualité sanitaire de la viande des poulets supplémentés.

Conclusion & Perspectives

Notre étude a permis de relever, dans nos conditions locales, l'impact de la supplémentation en symbiotique sur les performances zootechniques, la microflore intestinale, les antibiorésistances vis-à-vis des souches *Escherichia coli* ainsi, que la qualité sanitaire de la viande.

Notre expérimentation démontre, que la supplémentation en symbiotique n'a pas réduit significativement la consommation alimentaire, ni amélioré les indices de consommation et de conversion.

Par ailleurs, aucune amélioration des gains de poids n'a été constaté suite à l'addition du symbiotique. En revanche, l'apport du symbiotique a permis de réduire la moyenne du poids vif en fin d'élevage (J63), mais également le taux de mortalité ou nous avons enregistré une baisse de près de 40% à J63.

D'un point de vue intestinal, aucun effet positif du symbiotique n'est rapporté, la flore coliforme (coliformes totaux et fécaux) dénombrée au niveau des fientes chez le lot supplémenté en symbiotique s'est révélée légèrement plus importante comparé au lot témoin.

En revanche, l'apport en symbiotique a permis de réduire le nombre de bactéries renfermant la flore aérobie mésophile totale.

Enfin, après l'utilisation du symbiotique aucune amélioration des antibiorésistances des souches *Escherichia coli* n'est signalée.

Les résultats de la présente étude semble intéressant, rappelons tout de même que nos conditions d'élevages étaient bonnes sur le plan sanitaire mis à part l'incident survenu à J31 qui a engendré un déséquilibre rapidement récupéré surtout par les poulets supplémentés en symbiotique, nous pouvons donc supposer de meilleurs résultats à l'avenir sur le terrain algérien.

Conclusion et Perspectives

Des études ultérieures devraient être lancées dans cette optique afin d'élucider l'effet des symbiotiques dans de meilleures conditions d'élevage ainsi, que d'approfondir les connaissances sur les mécanismes d'actions et d'éventuels possibilités de transferts de plasmides de ces derniers.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdennebi EH., 2006: Antibactériens en médecine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages

Abraham EP., Chain E., 1940: An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Letters to the Editors, Lancet, Dec. 5th.

Afnor. Microbiologie des aliments – dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 degrés Celsius. NF V08- 060. 1996. 298p.

Afnor. Microbiologie des aliments – dénombrement des enterobactéries par comptage des colonies à 37 degrés Celsius. NF V 08-050. 1999. 298p.

Alami M., Barret R., Brion JD., Enguehard-Gueiffia C., Foliot P., Gaudy C., Gerondeau N., Gueffier A., 2005: Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique.

Amara A, Ziani Zakia, Bouzoubaa Khalid. Antibiorésistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. Veterinary microbiology. 1995. 325-330.

Amara S. Effets probiotiques des bactéries lactiques sur le poulet de chair. Mémoire magistère. Oran. Université d'Oran. 2012 ; 158 p

Ammor Mohamed Salim, Ana Belen Florez, Baltasar Mayo 2007. Antibiotic resistance in non –enterococcal Lactic acid bacteria and bifidobacteria Journal of food Microbiology 24 : 559-570.

Andreatti Filho, R. L., Da Silva, E. N., Ribeiro, A. R., Kendo, N., Curi, P. R., 2000. Use of anaerobic cecal microflora, lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with salmonella typhimurium and salmonella ' enteritidis. Braz. J. Microbiol., 31:107-112

Andrieu, V., 1995. Intérêt des probiotiques dans le gavage du canard. Application a la région des landes. Thèse Docteur vétérinaire. Faculté de médecine de Nantes

Angelovicova M., 1996. Zivocisna Vyroba, 41, 391-395Collection pharma Elsevier. Page 269

Anuradha, S., Rajeshwari, K., 2005. Probiotics in Health and Disease. JIACM., 6(1): 67-72

Apajalahti J, Kettunen A & Graham H (2004) Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. World's Poult. Sci. J. 60: 223-232.

Apajalahti J., Kettunen A., Bedford M., Holben W., 2001. Present G+C profiling accurately reveals diet-related differences in the gastrointestinal microbial community of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 5656-5667.

Awaad M.H.H., (2001). Effect of *pediococcus acidilactici* on layer hens zootechnical performance. *Poultry. Science. Res.* 26,78-84.

Awwad M.H.H. 2005. Effect of *Pediococcus acidilactici* on layer hens zootechnical performance. 6ème journée avicole.

B

Baucheron S., Mouline C, Payot S., Cloeckaert A., Chalus-Dancla E., 2003 : Mécanismes de résistance aux quinolones des *Escherichia coli* aviaires. INRA. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours.

Beha M.J. 2003. Activity of linezolid against anaerobic bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents* 22(1): 28

Bezkorovany, A., 2001. Probiotics determinants of survival and growth in the gut. *American J. Clin. Nutr.*, 73(2): 399-405

BELLAOUI G., 1990. Réflexion sur la situation de l'élevage avicole type chair dans la wilaya de Tindouf perspectives de développement. *Mém. d'ing. agro. INFSAS, Ouargla.* P 37.

Bentoumi R. 2004. Effet de la densité de la souche sur les performances du poulet de chair. Mémoire de fin d'étude Ines, Blida, 58 pages.

Bjerrum L, Engberg R, Leser T, Jensen B, Finster K & Pedersen K (2006) Microbial Community Composition of the Ileum and Cecum of Broiler Chickens as Revealed by Molecular and Culture-Based Techniques. *Poult. Sci.* 85: 1151-1164.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Blanco J., 1997a: Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J Clin Microbiol* Vol 35, No. 8 p. 2184-218

Bourenane M. L., et Naamane R. 2007. Effet de la substitution d'un antibiotique par un probiotique (BIOPLUS 2B) sur les paramètres zootechniques du poulet de chair. Mémoire de fin d'étude INES, Blida, 78 pages

Bouzagh T., 2010: Etude rétrospective sur l'évolution du microbisme (*Escherichia coli* et *Salmonella*) dans la filière chair dans la région du centre de l'Algérie, Thèse de magistère, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, 198 pages.

Bouziane, T., Elmajdoub, T., Thonart, Ph., Hamdi, M., 2004. Sélection de bactéries lactiques probiotiques d'origine animale. *Microb. Hyg. Alim.*, Vol 16. N° 46

Boyd F.M., Edwards H.M., 1967. Fat absorption by germ-free chicks .*Polut. Sci.*, 46, 1481-1483.

Brady, L. J., Gallaher, D. D. and Busta, F. F., 2000. The Role of Probiotic Cultures in the Prevention of Colon Cancer. *J. Nutr.*, 130: 410–414

Braun E.J., 2003. Regulation of renal and lower gastrointestinal function : role in fluid and electrolyte balance. *Comp. Bbiochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 136, 499-505.

Brizuela, M. A., Serrano, P., and Pérez, Y., 2001. Studies on Probiotics Properties of Two Lactobacillus Strains. *Brazilian archives of biology an international journal.*, 44(1): 95 – 99

Bush K., Jacoby et A.A.Medeiros. 1995. A functional classification schema for beta-lactamases and its correlation with molecular structure . *Antimicrob. Agents Chemother.* 39 : 1211-1233.

C

Calder, P. C. and S. Kew (2002). "The immune system: a target for functional foods?" *British Journal of Nutrition* 88: S165-S176

Camille Delarras. Enterobacteries . In :*Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.* Ed medicales internationales. France. 2010. p 476.

Casas, I. A. and Dobrogosz, W.J., 2000. Validation of the probiotic concept: lactobacillus reuteri confers broad-spectrum protection disease in humans and animals. *Microbial ecology in health and disease.*, 12: 247-285

Chafai S. 2006. Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances zootechniques du poulet de chair. Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar de Batna, 97pages.

Chandra, R. K., 2004. Micronutrients, probiotics and the liver. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 19: 398–400

Charteris W.P., Kelly P.M., Morellis L and Collins J.K. 1998. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in the upper human gastrointestinal tract, *Journ Appl Microbiol* 84, 759-768.

Choct, M., 2001. Alternatives to in-feed antibiotics in monogastric animal industry. *ASA Technical bulletin.* Vol. An 30.

Chou, L.S. and Weimer, B., 1999. Isolation and characterization of acid and bile Tolerant isolates from strains of Lactobacillus acidophilus. *J. Dairy. Sci.*, 82: 23–31

Chukeatirote, E., 2003. Potential use of probiotics. *J. Sci. Technol.*, 25(2): 75-282

Chulasiri M., Suthienkul O., 1989: Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens. *Vet Microbiol.* 21, 189—194.

Collignon A., Sandre C., Barc M.-C. « *Saccharomyces boulardii* module les propriétés des cellules dendritiques et le déséquilibre du microbiote intestinal après un traitement antibiotique ». *Gastroentérologie Clinique et Biologique.* septembre 2010. Vol. 34, n°4, p. 76-83

Coates, M.E., 1973. *Proc. Nutr .sco.,* 32, 53-58.

Coates M.E., 1980. The gut microflora and growth. In : *Growth in animals.* (Ed) T.L.J. Lawrence. Butterworths, London, UK, 175-188.

Conway, P. L., 1996. Selection criteria for probiotics. *Asia pacific J. Clin. Nutr.,* 5 :10-14

Conway, P. L., 2001. Prebiotics and human health: The state-of-the-art and future perspectives. *Scand. J. Nutr.,* 45:13-21

Courvalin P., 2008: La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bull. Acad Vét. France.* Tome 161 - N°1

Coppola, M. M., and Turnes, C. G., 2004. Probiotics and immune réponse. *Ciencia. Rural. Santa Maria.,* 34(4): 1297-1303

Corpet, D. E., 2000. Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les additifs alimentaires antibiotiques. *Méd. Vét.,* 151(2): 99-10

Cummings, J. H. and Kong, S. C., 2004. Probiotics, prebiotics and antibiotics in inflammatory bowel disease *Inflammatory bowel disease_crossroads of microbes, epithelium and immune systems.* Wiley, Chichester (NovartisFoundation Symposium263): 99-114

D

Dangond F, Gullans SR. 1998. Differential expression of human histone deacetylase mRNAs in response to immune cell apoptosis induction by trichostatin A and butyrate. *Biochem Biophys Res Commun ;*247(3):833-7

Deguchi Y., Morishita T., et Mutai M. 1985. Comparative studies on synthesis of water soluble vitamins among human species of bifidobacteria. *Agricultural and biological chemistry,* 49, 13-19.

Delcenserie, V., D. Martel, M. Lamoureux, J. Amiot, B. Y., and D. Roy. 2008. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Current Issues of Molecular Biology* 10:37-54

Deplancke B., Gaskins H.R., 2001. Microbial modulation of innate defense : goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am . J . Clin . Nutr .,* 73, 1131- 1141 S

Devie P, Divol A, Gilbert G, Laurent S, Le Goaziou A, Olivon M, Petit J. 2006. Les antibiotiques dans l'alimentation animale.

Denyer SP., Maillard JY., 2002: Cellular impermeability and uptake of biocide and antibiotics in Gram-negative bacteria. *J. Appl. Microbiol. Symposium (Suppl.)* 92, 35S-45S.

Desbuards N, Gourbeyre P, Haure-Mirande V, Darmaun D, Champ M, Bodinier M. 2011. Impact of perinatal prebiotic consumption on gestating mice and their offspring: a preliminary report. *Br J Nutr* ;1-4

DORTU C., THONART P. « Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires ». *Revue de Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. mars 2009. Vol. 13, n°1

Drouault, S., Corthier, G., 2001. Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet. Res.*, 32: 101-117

Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos,V., Tunail,N et Litopoulou-T Zanetaki, E., 2001. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from beyaz cheese made from raw ewes' milk. *J. Appl. Microbiol.* 91. 681-870.

E

Ecker, K. F. (1992). "Bacteriocin and food applications." *Dairy Food And Environmental Sanitation* (12): 204-209

Edens, F.W., 2003. An alternative for antibiotics use in poultry: Probiotics. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*,Vol.5. N°.2

El-nagger, M. Y. M., 2004. Comparative study of probiotic cultures to control the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*. *Biotechnology.*, 3 (2): 173-180

Ennahar, S., N. Deschamps, et al. (2000). "Natural variation in susceptibility of *Listeria* strains to class IIa bacteriocins." *Current Microbiology* 41(1): 1-4

Engberg RM, Hedemann M, Steinfeldt S & Jensen B (2004) Influence of Whole Wheat and Xylanase on Broiler Performance and Microbial Composition and Activity in the Digestive Tract. *Poultry Science* 83.

Engberg R.M., Hedemann M.S., Jensen B.B., 2002. The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.*, 43, 569-579.

Euzeby JP., 2005:Dictionnaire de bactériologie vétérinaire .<http://www.bacterio.cict.fr/bac-deco/index.html>.

F

FEDIDA D. Santé animale de l'aviculture tropicale. 1996. Guide Sanofi, France. p 117.

Ferket, P. R., Parks, C. W., and Grimes, J. L., 2002. Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. Department of Poultry Science. North Carolina State University

FERNANDEZ et RUIZ MATAS. Technicien en Elevage. France. 2003. p 39.

Filali E, Bell J.G.M, Houadfi, M.B.Huggins and J.K.A. Cook. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticaemia in Morocco. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis. 1988. Vol. 11, No. 2, pp. 121-124.

Fooks, L.J. and Gibson, G. R., 2002. Probiotics as modulators of the gut flora. Brit. J. Nutr., 88, suppl. I: 39-49

Frank A. 2002. Prébiotiques : In aliments fonctionnels Roberfroid M (coordinateur) Editions Tec et Doc. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Lavoisier. Paris 105-123.

Fuller, R. (1984). Microbial activity in the alimentary tract of birds. Proceed. Nutr. Soc.43 :55-61.

Furuse M., Okumura J., 1994. Nutritional and physiological characteristics in germ-free chickens. Comp. Biochem. Physiol., 109A, 547-556.

Furuse M., Yokota H., 1984. Effect of the gut microflora on the size and weight of organs of chicks fed diets of different protein content. Br. Poult.Sci., 25, 429-439.

Furuse M., Yang S.I., Niwa N., Okumura J., 1991. Br. Poult. Sci., 32, 159-165.

G

Gabriel I., Mallet S., Leconte M., Fort G., Naciri M., 2003. Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens .Poult. Sci., 82, 1668-1676.

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

Gabriel, L., Leconte, H., Guillon, J., Rideaud, P., Moreau- Vauzelle C. et Dupont C. (2005). Variabilité individuelle de la flore digestive du poulet observé par empreinte moléculaire. Septième Journées de la Recherche Avicole, Tours.

Garnacho-Montero J., Ortiz-Leyba C., Jimenez-Jimenez FJ., Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL., Bernabeu-Winttall M., Gallego-Lara SL., Madrazo-Osuna J., 2003: Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated

pneumonia (VAP) with intravenous colistin : a comparison with imipenem-susceptible VAP. Clin. Infect Dis. 36 (9), 1111-1118.

Gaudy C., et Buxeraud J ; 2005: Antibiotiques: Pharmacologie et Thérapeutique. Collection pharma 269 pages

Gauthier, R., 2002. Le mode d'action des acidifiants et leur intérêt en engraissement. Maisons-Alfort. <http://www.jefo.ca/pdf/AFMVP5-fr.pdf>

Ghafoor, A., Naseem, S., Younus, M., and Nazir, J., 2005. Immunomodulatory Effects of Multistrain Probiotics (Protexin™) on Broiler Chicken Vaccinated Against Avian Influenza Virus (H9). Poultry Science, 4 (10): 777-780

Gibson G.R et Roberfroid M.B 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics. J.Nutr. 125 : 1401-1412.

Gibson, G. R., and Fuller, R., 2000. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. J. Nutr., 130: 391–395

Gong J., Forster R.J., Yu H., Chambers J.R., Wheatcroft R., Sabour P.M., Chen S., 2002. Molecular analysis of bacterial populations in the ileum of broiler chickens and comparison with bacteria in the cecum. FEMS Microbiol. Ecol., 41, 171-179.

Gong J, Si W, Forster RJ, et al. (2007) 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca. FEMS Microbiol. Ecol. 59: 147-157.

Gournier-Château, N., Larpent, J. P., Castellanos, M.I., Larpent, J. L., 1994. Les probiotiques en alimentation animale et humaine. ED. TEC et DOC-Lavoisier. Paris

Grajek, W., Olejnik, A., and Sip, A., 2005. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. ACTA Biochimica. Polonica., Vol. 52 N°. 3: 665–671

Grizard D., and Barthomeuf C. 1999. Non digestible oligosaccharides used as prebiotic agents : Mode of production and beneficial effects on animal and human health. Reproduction ,Nutrition et développement 39, 563-588.

Gueimonde, M. and S. Salminen (2006). "New methods for selecting and evaluating probiotics." Digestive and Liver Disease(38): S242-S247.

Guérin Jean-luc., Bolloy Dominique., Villate Didier. Techniques d'élevage et santé des volailles, In : Maladies des Volailles. 3ème édition. France agricole. France. 2011. 576 P. ISBN 9782855572109.

Guillot, J. F., 2001. Consequences of Probiotics Release in the Intestine of Animals. Ciheam-Iamz., p. 17-21 (Cahiers Options Méditerranéennes; v. 54), 3.

Gunal, M., Yakar, S., Forbes, J. M., 2004. Performance and Some digesta parameters of broiler chickens given low or high viscosity wheat-based diets with or without enzyme supplementation. *Turk. J. Vet. Anim., Sci.* 28: 323-327.

Gusils, C., Bujazha, M., and Gonzalez, S., 2002. Preliminary studies to design a probiotic for use in swine feed. *Aug.*, Vol. 27. N° 08

H

Haddadin M.S.Y., Abdulrahim S.M., Hashlamoun E.A.R., Robinson R.K., 1996. The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition of hen's eggs. *Poult.sci.*, 75, 491-494.

Harris N.D., Strong D.H., Sunde M.L., 1968. Intestinal flora and chicken flavor. *J. Food Sci.*, 33, 543-547.

Hariharan, H., Murphy, G.A., Kempf, I. 2004. *Campylobacter jejuni*: Public health hazards and potential control methods in poultry. *Vet. Med.*, 49(11): 441-446

Hammami N. Effet de la supplémentation alimentaire en *Pediococcus Acidilactici* (probiotique) sur les paramètres zootechniques, la flore digestive lactobacillaire, et l'histométrie intestinale chez le poulet de chair. Mémoire de magistère. Alger. ENSV. 2009. 75P

Hamon, Y. and Y. Peron (1963). "Bactériologie - Quelques Remarques Sur Les Bactériocines Produites Par Les Microbes Gram-Positifs." *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Académie Des Sciences* 257(5): 1191-&

Helali A., 2002 : Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en Médecine, Edition ENAG, Alger, pages 135-171

Herich, R., Levkut. M., 2002. Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Vet. Med.*, 47(6): 169-180.

Herzig, I., Gopfert, E., Pisarikova, B., Strakova, E., 2003. Testing of growth promoting and protective activity of the probiotic lactiferm in weaned piglets. *Acta. Vet. Brno.*, 72: 331-338.

I

ITAVI. (1997b) L'ammoniac. Sciences et Techniques Avicoles, Hors-Série Septembre 1997, 49-52

ITAVI. (1997a) Les litières. Sciences et Techniques Avicoles, Hors-Série Septembre 1997, 43-47

ITAVI. (2009) Guide d'élevage aviculture fermière – quelques repères pour les éleveurs professionnels commercialisant en circuits courts. (en-ligne) Paris (Fr) : ITAVI. (http://www.itavi.asso.fr/elevage/aviculture_fermiere/guide_elevage_volailles_fermeres.php) (Consulté le 20 février 2017).

Idoui T. and Karam N-E 2008. Lactic acid bacteria from jijel's traditional butter : isolation, identification and major technological traits, Grasas y Aceites, 59 (4).

ISO. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* beta-glucuronidase positive à 44° Celsius. ISO-16649.2001.298p.

ISO. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30°Celsius- méthode de routine.2003. 298p

Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H., and Salminen, S., 2001. Probiotics: effects on immunity. Am. J. Clin. Nutr., Vol. 73, No. 2, 444-450

Ivanković, S., Kralik, G., Milaković, Z., Bogut, I., 1999. Effect of the probiotic vebac. Acta. Agraria. Kaposvariensis., Vol 3. No 2: 353-360.

Izquierdo Alegre E 2009. Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Strasbourg : Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, 230 p

J

Jin, L.Z., Abdullah, N. et Jalaludin, S . (1997). Probiotics in poultry : modes of action. Poult.sci .j.531 351-68.

Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., and Jalaludin, S., 1998. Acid and bile tolerance of lactobacillus isolated from chicken intestine. Appl. Microbiol., 27: 183-185

Jin, l. Z., Ho,Y. W., Abdullah, N., and jalaludin, S., 2000. Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with lactobacillus cultures. Poult. Sci., 79: 886-891

Johri T.S. 2004 Dietary additives for enhancing nutritional value of feeds. FAO.

Joseph- Pierre Guiraud et Jean-Philippe Rosec. Dénombrement des flores globales. In : pratique des normes en microbiologie alimentaire. France. 2006. P 300.

K

Kaur, I. P., A. Kuhad, et al. (2009). "Probiotics: Delineation of Prophylactic and Therapeutic Benefits." *Journal of Medicinal Food* 12(2): 219-235.

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

Kezzal K., 1993: les antibiotiques .collection les cours de médecine .office des publications universitaires 91 pages

Kheadr, E., Zihler, A., Dabour, N., Lacroix, C., Le Blay, G. & Fliss, I. 2010. Study of the physicochemical and biological stability of pediocin PA-1 in the upper gastrointestinal tract conditions using a dynamic in vitro model. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 109 (1): 54-64

Kim TE., Jeong YW., Cho SH., Kim SJ., Kwon HJ., 2007: Chronological study of antibiotic resistances and their relevant genes in Korean avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. *J. Clin. Microbiol.* 45, 3309-3315.

Kimura N., Mimura F., Nishida S., Kobayashi A., Mitsuoka T., 1976. Studies on the relation-ship between intestinal flora and cecal coccidiosis in chicken. *Poult.Sci.*, 55, 1375-1383.

Klaenhammer, T. R. (1988). "Bacteriocins of Lactic-Acid Bacteria." *Biochimie* 70(3): 337-349.

Klaenhammer, T. R. and M. J. Kullen (1999). "Selection and design of probiotics." *International Journal of Food Microbiology* 50(1 -2): 45-57

Klaenhammer, T., Altermann, E., Arigoni,F., Bolotin, A., Breidt, F., Broadbent, J., Cano, R., Chaillou, S., Deutscher, J., Gasson, M., Van de Guchte, M., Guzzo, J., Hartke, A., Hawkins, T., Hols,P., Hutkins, R., Kleerebezem, M., Kok, J., Kuipers, O., Lubbers, M., Maguin, E., McKay, L., Mills, D., Nauta, A., Overbeek, R., Pel, H., Pridmore, D., Saier, M., Sinderen, D., Sorokin, A., Steele, J., O'Sullivan, D., de Vos, W., Weimer, B., Zagorec, M., et Siezen, R., 2002. Discovering lactic acid bacteria by genomics. *Antonie. Van. Leeuwenhoek.*, 82: 29–58

Kozak, W., J. Bardowski, et al. (1978). "Lactostrepcins - Acid Bacteriocins Produced by Lactic Streptococci." *Journal of Dairy Research* 45(2): 247-257.

Kralik G., Milakovic Z., Ivankovite S (2004) Effect of probiotic supplementation on the performance and composition of the intestinal microflora in broilers. *Acta. Agraria Kaposvariensis.*, 8(2) : 23 – 31.

Kung, L. Jr., 2001. Direct-fed microbials and enzymes for dairy cows. Department of Animal & Food Sciences. University of Delaware

Kussaibati R., Guillaume J., Leclercq B., 1982a. The effect of gut microflora on the digestibility of starch and proteins in young chicks. *Ann. Zootech.*, 31, 483- 488.

Kwon YM., Ricke S C., 1998. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3458-3463.

L

Lafont JP., Bree A., Plat M., 1984: Bacterial conjugation in the digestive tracts of gnotoxenic chickens. *Appl Environ Microbiol* 47:639—642.

Lam, E. K. Y., Woo, P. C. Y., and Cho. C.H., 2005. Probiotics and Gastrointestinal Disorders. *Pharmacologyonline.*, 1: 88-147

LAOUER H. 1987 Analyse des pertes du poulet de chair au centre avicole de Tazoult Mém d'ing, INESA, Batna. p105.

Larbier, M. et Leclercq, B., 1994. Nutrition et alimentation des volailles. Edition. INRA.

Lavigne JP., 2007 : Effets des antibiotiques et Mécanismes de résistances, Facultés de Médecine Montpellier, p: 1-3.

Lee M. D., Lu J., Idris U., Harmon B., Hofacre C., Maurer J. J., 2002. Microbial dynamics of the broiler intestinal tract. The Elanco Global Enteritis Symposium.

Lee K ;W., Lee S.K and Lee B.D.(2006) *Aspergillus oryzae* as probiotic in Poultry. *Poult.sci.*, (1) 5.

Leeson S., Namkung H., Antongiovanni M., Lee E.H. 2002. Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poult.Sci.* 84 : 1418-1422.

Lepkovsky S., Wagner M., Furuta F., Ozine K., Koike T., 1964. The proteases, amylase and lipase of the pancreas and intestinal contents of germfree and conventional chicken. *Poult.Sci.*, 43, 722-726.

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

M

Mallet S., Bouvarel I., Lessire M., (2001). Facteurs de variation de la microflore intestinale des oiseaux domestiques : impact de l'alimentation. *4e Journ. Rech. Avicoles. Nantes, France,* 27-29 mars, 159-164.

Mallet, S., Elie, A. M., Lessire, M., Bouvarel, I., Urdaci, M. C., 2003. Influence des différentes compositions alimentaires sur la microflore intestinale du poulet de chair. Cinquièmes journées de la recherche avicole. Tours.

Malinen, E., 2002. Molecular methods for detection of probiotics and intestinal microbiota and evaluation of lactobacillus brevis as a potential probiotic dietary adjunct. University of Helsinki

Maassen C.B.M., Holten J.C.A.M.V., Balk F., Bak- Glashouwer M.J.H.D., Leer R., Iaman J.D., Boersma W.J.A., Claassen E., 1998. Orally administered Lactobacillus strains differentially affect the direction and efficacy of the immune response . Vet. Quarterly, 20, S3, S81-S83.

Marteau, P., 2001. Safety aspects of probiotic products. Scand. J. Nutr., 45:8-12

Masco L., Van Hoorde K., De Brandt E., Swings J et Huys G 2006. Antimicrobial susceptibility of bifidobacterium strains from humans, animals and probiotic products, Journal of antimicrobial chemotherapy, 58 , 85-94.

Mathlouthi N., Mallet S., Saulnier L., Quemener B., Larbier M., 2002. Effects of xylanase and b-glucanase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. Anim. Res., 51, 395-406.

Mead G.C., Griffiths N.M., Impey C.S., Coplestone J.C., 1983. Influence of diet on the intestinal microflora and meat flavour of intensively-reared broiler chickens. Br. Poult. Sci., 24, 261-272.

Mead G (1989) Microbes of the avian cecum: types present and substrates utilized. The Journal of Experimental Zoology 3: 48-54.

Mercenier, A., Pavan, S., and Pot, B., 2002. Probiotics as Biotherapeutic Agents: Present Knowledge and Future Prospects. Curr. Pharm. Design., 8: 99-110

Mercenier, A., Gaskins, R., D. Berg, R., Cortesy, B., Delespesse, G., Gill, H., Grangette, C., and Pouwels, P. H., 2002. Probiotics and the Immune System. Immunol Today., 18: 335-343

MESSAI C.,2013: Fréquence et profils d'antibiorésistance de souches E. Coli isolées de poulets de chair atteints de colibacillose à l'abattoir avicole de Sétif. Thèse Magister en Science vétérinaire.69-77.

Mohan B., Kadirvel R., Bhaskaran M., Natarajan A., 1995. Effect of probiotic supplementation on serum /yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers. Br. Poult. Sci., 36, 799-803.

Moran, E. T., 2005. Accommodating the omission of antimicrobials from Intensive Animal Production. Poultry Science Department, Auburn University. 26th Nutrition Conference, September 21 – 23, page 3

Moreau M.C., Gaboriau-Routhiau V., 2000. Influence of resident intestinal microflora on the development and functions of the intestinal –associated lymphoid tissue. In : Probiotics 3 :

Immunomodulation by the gut microflora and probiotics. (Eds) R. Fuller, G. Perdigon. Kluwer academic publishers, Dordrecht, 69- 114.

Morisset D, Berjeaud J.M, Hichkson M, Héchard Y. 2005. Bactériocines de bactéries lactiques. In Bactéries lactiques et probiotiques. Lavoisier . Paris. p 113-194

Moubareck C., Gavini F., Vaugien L., Butel M., Doucet- populaire F. 2005. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria Journal of Antimicrobial Chemotherapy 55, 38-44.

Mountzouris K., Beneas H., Tsirtsikos P., Kalamara E., and Fegeros K. 2006. Evaluation of the effect of new probiotic product on broiler performance and cecal microflora composition and metabolic activities. International Poultry Scizntific Forum.

Muramatsu T., 1990. Int. J. Biochem., 22, 793-800.

N

Nahashon S.N., Nakaue H.S., Snyder S.P., Mirosh L.W., 1994a. Production variables and nutrient retention in single comb White Leghorn laying pullets fed diets supplemented with direct-fed microbials . Poult. Sci., 73, 1699-1711.

Nahashon S.N., Nakaue H.S., Snyder S.P., Mirosh L.W., 1994b. Performance of single comb white leghorn layers fed corn- soybean meal and barley-corn- soybean meal diets supplemented with a direct-fed microbial . Poult.Sci., 73, 1712-1723.

Nauciel C., Vildé JL., 2008 : Bactériologie médicale. 2éme éditions. Editions Masson. Page 257

Neal M., 2007 : Pharmacologie médicale. 3éme éditions. De Boeck. Paris, pages 80-85

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

NOURI M., 2002. Poulet de chair. ITE. p 15.

Nowroozi, J., Mirzaii1, M., Norouzi, M., 2004. Study of Lactobacillus as Probiotic Bacteria. Iranian. J .Publ. Health., 33(2):1-7

O

O'Sullivan, G.C., Kelly, P., O'Halloran, S., Collins, C., Collins, J.K., Dunne, C., and Shanahan, F., 2005. Probiotics: An Emerging Therapy. Curr. Pharm. Design., 11: 3-10

Ouwehand, A. C, S. Salminen, et al. (2002). "Probiotics: an overview of beneficial effects." Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology 82(1-4): 279-289

P

Page C., Curtis M., Sutter M., Hoffman B., 1999: Traduction de la 1ère édition anglaise par Cheymol G. Pharmacologie intégrée, De Boeck. Paris. p : 419-460.

Pages J., 2004 : Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. Médecine/Sciences, 346-51

Palmer M.F., Rolls B.A., 1983. Br.J.Nutr., 50, 783-790.

Panda A.K., Reddy M.R., Ramarao S.V., Prahara N.K., 2000. Effect of dietary supplementation of probiotic on performance and immune response of layers in the decline phase of production. Indian J . Poult .Sci. 35, 102- 104.

Paquet- Bouchard C., 2006: Caractérisation moléculaire de la protéine antibiotique P1 du phage AP205, maîtrise en microbiologie-immunologie, Université Laval.

Parada, J. L., Caron, C. R., Medeiros, A. B. P. & Soccol, C. R. 2007. Bacteriocins form lactic acid bacteria: Purification, properties and uses as Biopreservatives. Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal . Vol. 50 (3) : 521-542

Partanen K.H. et Mroz Z. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diet .Nutr.Res.Rev.12 : 117- 145.

Pelicano E.R.L., Souzaa P.A., Souzaa H.B.A ., Figueirido D. F., Boigo M.M., Carvalho S.R., Bordon 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. Rev. Bras. Cienc., 7(04) : 221- 229.

Pereira, D. I. A., McCartney A. L., and Gibson, G. R., 2003. An Vitro Study of the Probiotic Potential of a Bile-Salt-Hydrolyzing Lactobacillus fermentum Strain, and Determination of Its Cholesterol-Lowering Properties. Appl. Environ. Microbiol., 69(8): 4743-4752

Percival, M., 1997. Choosing a Probiotic Supplement.Clinical. Nutrition. Insights. Vol. 6, No.1

Percival, M., 1999. Intestinal Health. ANSR. Applied Nutritional Science Reports., Vol. 5, No. 5

Phillips S.M., Fuller R., 1983. The activities of amylase and a trypsin like protease in the gut contents of germ-free and conventional chickens. Br. Poult. Sci., 24, 115-121.

Pinchuk IV., Bressollier P., Verneuil B., Fenet B., Sorokulova IB., Mégraud F and Urdaci MC 2001. In vitro anti-Helicobacter Pylori activity of the probiotic Strain Bacillus subttilis is due to secretion of antibiotics. Antimicrob. Ag. Chemother. 45, 3156-3161.

Poyart C., 2003 : Résistances des bactéries aux Antibiotiques, In : Bactériologie générale. P.C.E.M.2. Faculté de médecine Necker-Enfants malades, p : 1-89.

Q

Quintiliani R Jr., Courvalin P. , 1995: Mechanisms of resistance to antimicrobial agent. In "Manual of clinical microbiology" Edited by Murry et al., 6* Edition, American Society of Microbiology Press, pp. 1308-1326.

R

Rahal K. 1999 : standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, I.N.S.P Algérie.

Ramdane M.S. Etudes qualitatives et quantitatives des résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille et les œufs dans la région de la Mitidja, utilisation des probiotiques comme alternative. Thèse de doctorat. Tizi –ouzou. Université Mouloud Mammeri. 2015. 153p.

Ramirez reyes, B, Zambrano Santisteban, O., Ramirez Perez, Y., Rodriguez Valera, Y et Morales Medina Y. 2005. Evaluation de l'effet des probiotiques Lactobacillus spp origine aviaire. Red vet. Vol.5. N° 09

Rastall, R. A., Gibson, G. R., 2004. Functional foods. Bioscience., Vol 2, N 1

Revington, B., 2002. Feeding poultry in the post-antibiotic era. Multi-State Poultry Meeting. <http://ag.ansc.purdue.edu/poultry/multistate/multi-state.pdf>.

Rolfe, R. D., 2000. The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. J. Nutr., 130: 396–402

Roy D. 2006. Innocuité, Qualité et Efficacité des Probiotiques. Biotechnologies des cultures lactiques d'intérêt laitier et probiotique. AISA : Association pour les Ingrédients Santé en Alimentation.

S

Saberfar E, Pourakbari B., Chabokdavan K., Taj Dolatshahi F, 2008: Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005-2006. J Appl Poult Res. 17,302-304.

Sakata T., Setoyam H., 1995. Local stimulatory effect of short chain fatty acids on the mucus release from the hindgut mucosa of rats (Rattus norvegicus). Comp. Biochem. Physiol. A. Physiol., 111, 429- 432. **Schrezenmeir, J and De Vrese, M., 2001.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition. Am. J. Clin. Nutr., 73(2): 361-364

Saarela, M., G. Mogensen, et al. (2000). "Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties." Journal of Biotechnology 84(3): 197-215

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

Scardovi S, Saxelin M 1986. Genus Bifidobacterium . In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol, 2ed Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.PP 1418-1434 Baltimore, MD Williams and Wilkins.

Shakouri M, Iji P, Mikkelsen L & Cowieson A (2009) Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 93: 647-658

Schrezenmeir, J and De Vrese, M., 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition. Am. J. Clin. Nutr., 73(2): 361-364

Sheldon B.W., Essary E.O., 1982. Poult . Sci., 61, 280-287

Sherman, P. M., Ossa, J. C. & Jonhson-Henry, K. Unraveling Mechanisms of Action of Probiotics. Nutrition in Clinical Practice 2009, Vol. 24 (1) : 10-14

Shoaf K, Mulvey GL, Armstrong GD, Hutkins RW. 2006. Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic Escherichia coli to tissue culture cells. Infect Immun ;74(12):6920-8

Salminen S., Wright A., Morelli L., Marteau P., Brassart D., Devos W.M., Fonden R., Saxelin M., Collins K., Mogensen G. and Birkeland S.E., Matilla- Sandholmt T., 1998. Demenstaration of safety of probiotics – a review, 44 (1-2) : 93- 106.

Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M.C., Cummings, J. H., Franck, A. Gibson, G. R., Isolauri, E., Moreau, M.C., Roberfroid, M. and Rowland, I., 1998. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. Br. J. Nutr., 80:147-171

Salminen, S., 2001. Human studies on probiotics: Aspects of scientific documentation. Scand. J. Nutr., 45:8-12

Salter D.N., 1973. The influence of gut microorganisms on utilization of dietary protein . Proc. Nutr. Soc., 32, 65- 71.

Sanders, M. E., 1999. Probiotics. Food. Technol. vol. 53, no. 11

Sanders, M. E., 2001. Lactic acid bacteria and human health. Dairy and Food culture technologies, USA., 73:361–364

Sato K., Nagai H., Kai O., 1986. Jpn. Poult . Sci., 23 , 91-96.

Servin A., Coconnier .M.H. 2003. Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens, Best Pract. Res.Clin. Gastroenterol., 17 PP. 741-754.

Siddons R.C., Coates M.E., 1972. Br.J.Nutr., 27, 101-112.

Sillanpaa, J., 2001. Tissue-Adherence in lactic acid bacteria: Identification and characterization of the collagen-binding S-layer protein of *Lactobacillus crispatus*. University of Helsinki

Simon O., Jadamus A., et Vahjen W. (2001) Anim. Feed Sci., 10 : 51-67.

Simon, O., 2005. Micro-Organisms as Feed Additives –Probiotics. Advances in Pork Production Volume 16, pg. 161

Smith J.C., Soares J.H., 1984. Minerals. In : The germ-free animal in biomedical research. (Eds) M.E. Coates B. Gustafsson. Laboratory Animals handbooks, London, UK , 275-284.

Sorum, H et Sinde, M. (2001). Resistance of antibiotics in the normal flora of animals .Vet . Res. 32 :227-241 INRA, EDP sciences.

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

Suskovic, J., Kos, B., Goreta, J., and Mato, S., 2001. Role of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in Synbiotic Effect. Food. technol. biotechnol., 39 (3): 227-235.

Stein H.H et Kil D.Y. 2006. Reduced use of antibiotic growth promoters in diet fed to weanling pigs : Dietary tools part 2. Anim. Biotechnol 17 : 217231.

Surdeau PH et Henaff R. la production du poulet. Ed J. Paris. Baillière B, 1979, 155p.

Suvarna, V. C., and Boby., V. U., 2005. Probiotics in human health: A current assessment. Current. Science., Vol. 88, No. 11, 10

Suzuki K., Kodam Y., Mitsuoka T., 1989. Stress and intestinal flora. Bifidobact. Microflora,8, 23-38.

Snel, J., H., Harmssen, J.M. et Williams, B.A, (2002). Dietary strategies to influence the gastrointestinal microflora of young animals, and its potential to improve intestinal health. Nutr.And Health of the Gastro. Tract. 10 :39-69.

Swiicki A.K., Beilceka M., Wjcik R., Biedrzycka, E., Smoragewicz W., Orłowski A., Malaczewska J., Kask S. 2005. Effect of selected probiotics on non-specific cellular and humoral defense mechanisms and protection against salmonellosis- experimental study in broiler chickens. Roadshow 3. Guthealth. Support.

T

Takeuchi T., Kitagawa H., Imagawa T., Uehara M., 1998. Proliferation and cellular kinetics of villous epithelial cells and M cells in the chicken caecum. J. Anat., 193, 233-239.

Tagg, J. R., A. S. Dajani, et al. (1976). "Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria." *Bacteriological Reviews* 40(3): 722-756.

Tamura Z., 1983. Nutriology of Bifidobacteria . *Bifidobacteria and Microflora* (2) 1 : 3 1-6.

Tankovic J., Duval J., 2007: Mécanismes d'action des antibiotiques in *Médecine thérapeutique*, Vol 3, hors série, p : 37-69

Tellez G., Dean C.E., Corrier D.E., Deloach J.R., Jaeger L., Hargis B.M., 1993. Effect of dietary lactose on cecal morphology, pH, organic acids, and salmonella enteritidis organ invasion in Leghorn chicks. *Poult. Sci.*, 72, 636-642

Thomke S., Elwinger K., 1998. Growth promotants in feeding pigs and poultry. I. Growth and feed efficiency responses to antibiotic growth promotants. *Ann. Zootech.*, 47, 85-91

Toma, M. M., Raipulis, J., Kalnina, I. and Rutkis, R., 2005. Effect of Probiotic Yeast on Genotoxicity. *Food Technol. Biotechnol.*, 43 (3): 301-305

Tortora G., Derrickson B. 2007. Principes d'anatomie et de physiologie. Edition duRenouveau Pédagogique.Paris : De Boeck, XXX-1246 p

Tortuero F., Fernandez E., 1995. Effect of inclusion of microbial cultures in barley-based diets fed to laying hens . *Anim. Feed Sci. Technol.*, 53, 255-265.

V

Vanhoutvin SA, Troost FJ, Hamer HM et al. 2009. Butyrate-induced transcriptional changes in human colonic mucosa. *PLoS One* ;4(8):e6759

Van Den Bogaard AE., London N., Driessen C., Stobberingh EE., 2001: Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J. Antimicrob Chemother.* 47, 763-771.

Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans, F., Haesebrouk, F., Ducatelle, R., 2003. Stratégies nutritionnelles pour réduire les agents pathogènes chez la volaille. Cinquièmes journées de la recherche avicole. Tours .

Villarruel G, Rubio DM, Lopez F, Cintoni J, Gurevech R, Romero G, Vandenplas Y. 2007 *Saccharomyces boulardii* in acute childhood diarrhoea: a randomized, placebo-controlled study. *Acta Paediatr. Apr*; 96(4): 538-41

Vinolo MA, Hatanaka E, Lambertucci RH, Newsholme P, Curi R. 2009. Effects of short chain fatty acids on effector mechanisms of neutrophils. *Cell Biochem Funct* ;27(1):48-55

Vittorio S.A., Maurof F., Carla B., Giovanna D.D., Giovanni S. et Chevaux E. 2005. Effets de l'addition de *Pediococcus acidilactici* dans la ration de poulets de chair sur les

performances zootechniques et la microflore intestinale. Sixième journée de la recherche avicole. S. Malo.

W

Wambeke F.V., Peeters J., 1995. The effect of paciflor (R) on the performances, carcass composition and caecal bacterial numbers of broilers. Arch. Geflugelkd, 59, 125-129.

Wealleans, A. L., and J. C. Litten-Brown. 2010.The potential of probiotics as in-feed growth enhancers for swine. Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods 7:65-75

Wielen, P.W. , Biesterveld, S.,Notermans, H et Hofstra, B.A, (2000). Role of volatile fatty acids in development of caecal microflora in broiler chickens during growth. App. Environ.Microbio. 66 :25 36- 2540.

Wise MG & Siragusa GR (2006) Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets. J. Appl. Microbiol. 0: 1138-1149.

Y

Yalla D., Merad AS., Mohamdi D., Ouarkorich MN., 2001 : Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. 91, 1-11.

Yang H., Chen S., White DC, Zhao S., McDermott P., Walker R., Meng J., 2004: Characterization of multiple-antimicrobial-resistant Escherichia coli isolates from diseased chickens and swine in China. J Clin Microbiol. 42, 3483-3489

Yeni P., 2003 : Pathologie Infectieuse. Médecine Science, 3ème édition, Flammarion. Paris, p : 237-246.

Yeo, J., and kim, k. i., 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal uréase activity in broiler chicks. Poult. Sci., 76: 381-385

Yokota H., Coates M.E., 1982. The uptake of nutrients from the small intestine of gnotobiotic and conventional chicks. Br. J. Nutr., 47, 349- 356.

Z

Zacconi, C., Scolari, G., Sarra, P. G., 1999. Effect of administration of Lactobacillus salivarius and lactic microflora in chick digestive tract. Annali di Microbiologia ed Enzimologia., 49 : 117-123

Zhao S., Maurer JJ. , Hubert S., De Villena JF. , McDermott PF., Meng J. , Ayers S., English L, White DG., 2005: Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic Escherichia coli isolates. *Vet Microbiol.* 107,215-224.

Zahraei Salehi T., Farashi Bonab S., 2006: Antibiotics susceptibility pattern of Escherichia coli strains isolated from chickens with coli septicemia in Tabriz Province, Iran. *International Journal of Poultry Science* 5 (7): 677-684

Zentek J., Kamphues J., 2002. *Wiener Tierarztliche Monatsschrift*, 89, 100-106.

Zhang, Z., Marquardt, R. R., and Guenter, W., 2000. Evaluating the Efficacy of Enzyme Preparations and Predicting the Performance of Leghorn Chicks Fed Rye-Based Diets with a Dietary Viscosity Assay. *Poult. Sci.*, 79: 1158–1167.

Zhu X.Y., Zhong T., Pandya Y., Joerger R.D., 2002. 16S rRNA-based analysis of microbiota from the caecum of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 124-137

Annexes

ANNEXE 1

Compositions des milieux utilisés :

1) Milieux de pré enrichissement et d'enrichissement :

Eau peptonée tamponnée (EPT)

Peptone	10g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Phosphate disodique anhydre	3,5g/L
Dihydrogénophosphate de potassium	1,5g/L
pH= 7,2 ± 0,2	

Bouillon Nutritif (BN)

Peptone	10g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Extrait de bœuf	10g/L
pH Final 7,3	

Bouillon selenite f broth (SFB)

Digestion pancréatique de caseine	5g/L
Lactose	4g/L
Sélenite de sodium	4g/L
Phosphate de sodium	10g/L

2) Milieux d'isolement :

Gélose Hektoen_:

Protéose-peptone	.12,0 g/l
Extrait de levure : facteur de croissance.	3,0 g/l
Lactose : critère de différenciation	12,0 g/
Saccharose : critère de différenciation	12,0 g/l
Salicine : critère de différenciation	2,0 g/l
Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H ₂ S	1,5 g/l
Sels biliaires : inhibiteur	9,0 g/l
Fuchsine acide : inhibiteur	0,1 g/l
Bleu de bromothymol : indicateur de Ph	0,065 g/l
Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique	5,0 g/l
Thiosulfate de sodium : précurseur d'H ₂ S	5,0 g /l
Agar	14,0 g/l

pH = 7,6

Gélose Salmonella-Shigella (SS) :

Peptone	5g/L
Extrait de viande de bœuf	5g/l
Sels biliaires	4,2g/L
Citrate de sodium	10g/L
Thiosulfate de sodium	8,5g/L
Citrate de fer	2g/L
Lactose	10g/l
Rouge neutre	25mg
Vert brillant	0,3mg
Agar	12g/L

pH final 7,3 ± 0,2 à 25°C

3) Milieu pour antibiogramme :

Mueller Hinton :

Extrait de viande	3g
Hydrolysate acide de caseine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	16g
Eau distillée	1L

pH = 7,3

4) Milieux pour le dénombrement

- **Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL)**

Peptone	7g/l
Extrait de levure	3g/l
Lactose	10g/l
Chlorure de sodium	5g/l
Mélange sel biliaire	1,5g/l
Cristal violet	0,002g/l
Rouge neutre	0,03g/l
Agar	15g /l

pH 7,4

- **Gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBG)**

Extrait de levure	3g/L
Peptone	7g/L
Chlorure de sodium	5g /L
Sels biliaires	1,5g/l
Glucose	10g/l
Rouge neutre	0,03g/L

Cristal violet 0,002g/L

Agar 12g/l

pH 7,4 ± 0,2

• **Milieu plate Count Agar (PCA)**

Tryptone 6g/L

Extrait de levure 2,5g/L

Glucose 1 g/L

Agar 15g/L

pH 7

ANNEXE 2

Tableau de lecture Api 20E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.223	B-galactosidase (Ortho NitroPhenil-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1.9	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	1.9	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation du citrate	Jaune	Bleu-vert/Bleu (3)
H ₂ S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H ₂ S	Vert pâle/jaune	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	0.76	Uréase	Incolore/grisâtre	Rouge/orangé (2)
TDA	Tryptophane	0.38	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
				jaune	Marron-rougeâtre
IND	Tryptophane	0.19	Production d'indole	James/ immédiat	
				Incolore vert pâle/ jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP1+VP2/ 10 min	
				Incolore/rose pâle	Rose / rouge (5)
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Gélatinase (gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation/oxydation (Glucose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol	1.9	Fermentation/oxydation (Mannitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1.9	Fermentation/oxydation (Inositol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation/oxydation (Sorbitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation/oxydation (Rhamnose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation/oxydation (Saccharose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1.9	Fermentation/oxydation (Melibiose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0.57	Fermentation/oxydation (Amygdaline) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation/oxydation (Arabinose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre		Cytochrome-oxydase	Ox/ 5-10 mn	
				Incolore	Anneau violet

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (3) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
- (4) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (5) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (6) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

Annexe 3 :

Détails du test Fisher pour la moyenne du poids vif :

A J25

<u>Test F de Fisher / Test bilatéral :</u>		<u>Test t pour deux échantillons indépendants / Test bilatéral :</u>	
Rapport	1,086	Différence	-0,052
F (Valeur observée)	1,086	t (Valeur observée)	-0,866
F (Valeur critique)	2,979	t (Valeur critique)	2,048
DDL1	14	DDL	28
DDL2	14	p-value (bilatérale)	0,394
p-value (bilatérale)	0,879	alpha	0,05
alpha	0,05		

Interprétation du test :

H0 : La différence entre les moyennes est égale à 0.

Ha : La différence entre les moyennes est différente de 0.

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H0.

A J45

<u>Test F de Fisher / Test bilatéral :</u>		<u>Test t pour deux échantillons indépendants / Test bilatéral :</u>	
Rapport	1,798	Différence	-0,088
F (Valeur observée)	1,798	t (Valeur observée)	-0,565
F (Valeur critique)	2,979	t (Valeur critique)	2,048
DDL1	14	DDL	28
DDL2	14	p-value (bilatérale)	0,576
p-value (bilatérale)	0,284	alpha	0,05
alpha	0,05		

A J63

Rapport	1,203	Différence	0,860
F (Valeur observée)	1,203	t (Valeur observée)	2,119
F (Valeur critique)	2,979	t (Valeur critique)	2,048
DDL1	14	DDL	28
DDL2	14	p-value (bilatérale)	0,043
p-value (bilatérale)	0,734	alpha	0,05
alpha	0,05		

Détail du test Wilcoxon :

Indice de consommation

Test de Wilcoxon signé / Test bilatéral :

V	5
Espérance	3,000
Variance (V)	3,500
p-value (bilatérale)	0,423
alpha	0,05

Poids vif

Test de Wilcoxon signé / Test bilatéral :

V	2
Espérance	5,000
Variance (V)	7,500
p-value (unilatérale)	0,181
alpha	0,05

Ingéré alimentaire

Test de Wilcoxon signé / Test bilatéral :

V	9
Espérance	5,000
Variance (V)	7,500
p-value (bilatérale)	0,201
alpha	0,05

Indice de conversion

V	5
Espérance	3,000
Variance (V)	3,500
p-value (bilatérale)	0,423
alpha	0,05

Gain de poids

Test de Wilcoxon signé / Test bilatéral :

V	2
Espérance	5,000
Variance (V)	7,500
p-value (bilatérale)	0,361
alpha	0,05

Détail du test Z (test de l'écart réduit)

Taux de mortalité

A J25

A J45

TAUX DE MORTALITE

J1-J25

Test z pour deux proportions / Test bilatéral :

Différence	0,005
z (Valeur observée)	0,639
z (Valeur critique)	1,960
p-value (bilatérale)	0,523
alpha	0,05

A J45

J25-J45

Différence	-0,001
z (Valeur observée)	-0,084
z (Valeur critique)	1,960
p-value (bilatérale)	0,933
alpha	0,05

Interprétation du test :

H0 : La différence entre les proportions est égale à 0.

Ha : La différence entre les proportions est différente de 0.

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$, on ne peut pas rejeter

L'hypothèse H0.

A J63

J1-J63

Différence	0,023
z (Valeur observée)	2,116
z (Valeur critique)	1,960
p-value (bilatérale)	0,034
alpha	0,05

Taux de mortalité cumulé

J45-J63

Différence	0,021
z (Valeur observée)	2,917
z (Valeur critique)	1,960
p-value (bilatérale)	0,004
alpha	0,05

Annexe : 4



Photo 1 et 2. Mesure de la température et de l'hygrométrie à l'aide de l'appareil « Environment Meter ».



Photo 3. Mesure du taux d'ammoniac à l'aide des Bandlettes « Pulmotil AC ».