



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie  
Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA)

# THÈSE

Présentée par

Mme BENBARA Tassadit

Pour l'obtention du grade de

**DOCTEUR EN SCIENCES**

Filière : Biologie

Option : Microbiologie

Thème

**Potentiel probiotique de souches de *Lactobacillus* et de *Pediococcus*  
isolées de fientes de poulet de chair : étude *in vitro* et *in vivo*.**

Soutenue le : 23-02-2022

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mr KECHA Mouloud	Professeur	Univ. de Bejaia	Président
Mm BENDALI Farida	Professeur	Univ. de Bejaia	Rapporteur
Mr DRIDER Djamel	Professeur	Univ. de Lille (France)	Examineur
Mr IDOUI Tayeb	Professeur	Univ. de Jijel	Examineur
Mr HOUALI Karim	Professeur	Univ. de Tizi Ouzou	Examineur
Mr BOUKHALFA Farid	MCA	Univ. de Bejaia	Examineur

Année Universitaire : 2022/2023

## *Dédicace*

Je dédie ce travail de thèse aux deux plus belles et précieuses personnes au Monde, mes très chers parents, mon papa et ma maman, que Dieu les protège et les garde en bonne santé. Ils n'ont jamais cessé, d'une façon ou d'une autre de m'aider dans la réalisation de cette thèse. Ils étaient toujours avec moi par leurs conseils. Aucun mot ne peut exprimer mes remerciements.

A mes magnifiques sœurs : Amel, Zakia et Assia et à mes deux frères :  
Djelalli et Nadjib.

A mon cher mari, son soutien et son aide dans les moments difficiles, sa compréhension et sa patience durant ces années de mariage. Au bonheur et la joie de ma vie, mon ange : mon fils Ayoub que Dieu le protège de tous mal.

A ma belle famille, précisément ma belle mère et ma belle sœur Naima, je vous remercie infiniment pour votre aide sans oublier les autres membres de la famille ZIANI.

A la mémoire de mon oncle BENBARA Ferhat qui nous a quitté y a peu de temps, que Dieu l'accueille dans son vaste paradis. A tous les membres de la grande famille BENBARA.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de cette thèse.

# ***REMERCIEMENTS***

Ce travail a été réalisé au sein de l'équipe « Interactions microbiennes, biofilms et probiotiques » du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'Université A. Mira-Bejaia.

J'adresse, en premier lieu, mes sincères remerciements à M<sup>me</sup> BENDALI Farida, Professeur au sein de l'université de Bejaia, pour ses encouragements, ses conseils, son aide et son soutien moral. Vous serez toujours un modèle pour moi du point de vue humain et professionnel, vous étiez, non seulement un encadreur pour moi, mais aussi une personne qui m'a guidé pour retrouver la bonne voie, une personne qui écoute et comprend ses étudiants. Je vous remercie d'avoir accepté d'être mon encadreur, d'être là durant la préparation de ma thèse de doctorat. Tous ces mots ne peuvent exprimer suffisamment mes remerciements.

Je tiens à remercier également, les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Au Président de Jury:

Monsieur le Professeur KECHA Mouloud pour l'honneur qu'il nous fait d'accepter de présider le jury, d'évaluer et d'examiner cette thèse, vos remarques et suggestions ne feront que perfectionner ce travail.

Aux membres de jury:

Messieurs les Professeurs DRIDER Djamel (université de Lille, France), IDOUI Tayeb (université de Jijel), HOUALI Karim (université de Tizi Ouzou) et Monsieur le Docteur BOUKHALFA Farid (université de Bejaia) pour avoir accepté d'examiner ce travail de thèse et d'apporter vos critiques et suggestions pour son amélioration.

Mes remerciements s'adressent aussi aux directeurs successifs du laboratoire de Microbiologie Appliquée, Professeur BENALLAOUA Said et Professeur KECHA Mouloud de m'avoir accepté au sein de l'équipe et de nous avoir apporté les moyens, le matériel et l'environnement idéal pour la recherche.

Je remercie les membres de l'équipe « Interactions microbiennes, biofilms et probiotiques » entre autres : M<sup>elle</sup> LALOUCHE Sylia et Mr AIT SEDDIK Hamza qui ont contribué grandement dans ce travail.

De même, nous remercions toute personne qui a contribué à la réalisation de ce travail, à savoir : Dr SEKLAB (Anatomopathologiste), la direction des services agricoles (DSA) de la wilaya de Bejaia, les vétérinaires et les éleveurs de poulet de chair de la wilaya de Bejaia (Amizour et Sidi Aich) ainsi que les éleveurs de poulet de chair de la wilaya de Bouira.

Merci à tous

## Liste des abréviations

**ADN.** Acide desoxyribonucleique

**ADNr.** Acide desoxyribonucleique ribosomique

**AFSSA.** Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

**ANOVA.** Analysis of variance

**ANSEJ.** Agence Nationale de Soutien à l'Emploi des Jeunes

**ARN.** Acide ribonucléique

**ARNr.** Acide ribonucléique ribosomique

**ATCC.** American Type Culture Collection

**CIP.** Collection de l'Institut Pasteur

*E. Escherichia*

**EFSA.** European Food Safety Authority

**EMB.** Eosin Methylene Blue

**FAO.** Food and Agriculture Organization

**INRA.** Institut National de Recherche Agronomique

*Lb. Lactobacillus*

**MALDI TOF.** Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight

**MRS.** de Man Rogosa and Sharpe

**OGA.** Oxytetracycline Glucose Agar

**OMS.** Organisation Mondiale de la Santé

**ONPG.** OrthoNitroPhenylGalactoside

**PALCAM.** Polymixin B, Acriflavine, Lithium Chloride, Ceftazidime, Aesculin, D-Mannitol

**PBS.** Phosphate Buffered Saline

**PCA.** Plate Count Agar

*Pd. Pediococcus*

**RM.** Rouge de Méthyle

**TSA.** Trypticase Soja Agar

**TSI.** Triple Sugar Iron

**UFC.** Unité Formant Colonie

**VP.** Vosges Prauskawer

**VRBG.** Vert Brillant, Rouge Neutre, Bile, Glucose

## Liste des figures

N°	Intitulé	Pages
01	Description du tube digestif de poulet.....	04
02	Représentation des différents genres microbiens autorisés en tant qu'additifs en alimentations porcine et avicole en Europe.....	11
03	Résultats du dénombrement des lactobacilles dans des échantillons de fientes (E1-E5) de poussins en phase de démarrage (5 jours) prélevés dans un poulailler (N°10) de la wilaya de Bejaia.....	33
04	Résultats du dénombrement des lactobacilles chez des poussins en phase de démarrage (5 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Bouira.....	34
05	Résultats du dénombrement des lactobacilles chez des poulets en phase de croissance (30 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Bejaia.....	35
06	Résultats du dénombrement des lactobacilles chez des poulets en phase de croissance (30 jours) au niveau de quatre poulaillers de la wilaya de Bouira.....	36
07	Résultats du dénombrement des levures dans des échantillons (E1-E5) de fientes de poussins en phase de démarrage (5 jours) prélevés dans un poulailler (N°10) de la wilaya de Bejaia.....	37
08	Résultats du dénombrement des levures chez des poussins en phase de démarrage (5 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Bouira.....	38
09	Résultats du dénombrement des levures chez des poulets en phase de croissance (30 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Bejaia.....	39
10	Activité antibactérienne des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées de la région de Sidi-Aich vis-à-vis de la souche de référence <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	42
11	Activité antibactérienne des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées de la région de Sidi-Aich vis-à-vis de la souche de référence <i>Salmonella enterica</i> CIP 81-3.....	42
12	Activité antibactérienne des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées de la région de Sidi Aich vis-à-vis de la souche <i>E. coli</i> SL-2016.....	43

<b>13</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées de la commune d'Amizour vis-à-vis de la souche de référence <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	<b>44</b>
<b>14</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées de la commune d'Amizour vis-à-vis de la souche de référence <i>Salmonella enterica</i> CIP 81-3.....	<b>44</b>
<b>15</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées de la commune d'Amizour vis-à-vis de la souche de référence <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	<b>45</b>
<b>16</b>	Exemples de résultats d'activité antibactérienne (test des spots) de souches de <i>Lactobacillus</i> à l'égard des souches cibles ( <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>Salmonella enterica</i> CIP 81-3 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923).....	<b>45</b>
<b>17</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	<b>47</b>
<b>18</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence <i>Salmonella enterica</i> CIP 81-3.....	<b>48</b>
<b>19</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence <i>Listeria innocua</i> CIP 74915.....	<b>49</b>
<b>20</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	<b>49</b>
<b>21</b>	Exemples de résultats d'activité antibactérienne (test des spots) de souches de <i>Pediococcus</i> à l'égard des souches cibles ( <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>Salmonella enterica</i> CIP 81-3, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 et <i>Listeria innocua</i> CIP 74915).....	<b>50</b>
<b>22</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC11 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>51</b>
<b>23</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC24 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>51</b>

<b>24</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC31 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>52</b>
<b>25</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC41 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>52</b>
<b>26</b>	Activité antibactérienne (test de spots) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC42 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>53</b>
<b>27</b>	Activité antibactérienne (test de spot) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC43 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>54</b>
<b>28</b>	Activité antibactérienne (test de spot) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC50 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>54</b>
<b>29</b>	Activité antibactérienne (test de spot) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC52 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>55</b>
<b>30</b>	Activité antibactérienne (test de spot) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC54 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>56</b>
<b>31</b>	Activité antibactérienne (test de spot) des souches de <i>Pediococcus</i> isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d' <i>E. coli</i> EC55 isolée de poulailler de la région d'Amizour.....	<b>56</b>
<b>32</b>	Survie au pH 1 (A) et 1,5 (B) des souches de <i>Lactobacillus</i> après 2 h d'incubation dans du bouillon MRS.....	<b>58</b>
<b>33</b>	Survie au pH 2 (A) et 2,5 (B) des souches de <i>Lactobacillus</i> après 2 h d'incubation dans du bouillon MRS.....	<b>59</b>
<b>34</b>	Survie au pH 2 des souches de <i>Pediococcus</i> après 2 h (A) et 3 h (B) d'incubation dans du PBS.....	<b>61</b>
<b>35</b>	Résistance à 0,1 % (A), 0,3 (B) et 0,5 (C) de bile des souches de <i>Lactobacillus</i> après 4 h d'incubation dans du bouillon MRS.....	<b>63</b>

<b>36</b>	Résistance à 0,1 % (A), 0,3% (B) et 0,5% (C) des souches de <i>Pediococcus</i> après 4 h d'incubation dans du PBS.....	<b>65</b>
<b>37</b>	Hydrophobicité (%) des souches de <i>Pediococcus</i> .....	<b>72</b>
<b>38</b>	Auto-agrégation (%) des souches de <i>Pediococcus</i> .....	<b>73</b>
<b>39</b>	Profil de résistance aux antibiotiques de quelques souches de <i>Pediococcus</i> .....	<b>74</b>
<b>40</b>	Dénombrement des lactobacilles à partir des fientes des poussins/poulets des trois lots (ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique).....	<b>78</b>
<b>41</b>	Dénombrement des entérobactéries à partir des fientes de poulets des trois lots (ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique).....	<b>81</b>
<b>42</b>	Quantité moyenne quotidienne d'aliments consommée / poussin ou poulet (g). (ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique).....	<b>82</b>
<b>43</b>	Evolution hebdomadaire du poids vif (g) des poussins ou poulets des trois lots (ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique).....	<b>83</b>
<b>44</b>	Coupes transversales réalisées au niveau du duodénum des poulets du lot témoin « TEM » (A) et du lot test « PRO » (B).....	<b>87</b>

## Liste des tableaux

N°	Intitulé	Pages
<b>I</b>	Nombre de microorganismes viables (log <sub>10</sub> /g de contenu) des groupes majoritaires dans le tube digestif de poulet.....	<b>07</b>
<b>II</b>	Probiotiques étudiés pour des applications en alimentation animale.....	<b>11</b>
<b>III</b>	Principaux critères utilisés pour la sélection des microorganismes probiotiques chez l'animal.....	<b>12</b>
<b>IV</b>	Echantillons de fientes prélevés dans les différents poulaillers.....	<b>16</b>
<b>V</b>	Signification des scores d'identification obtenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	<b>21</b>
<b>VI</b>	Composition et forme de l'aliment du poulet de chair selon l'âge.....	<b>24</b>
<b>VII</b>	Programme de vaccination des poussins.....	<b>25</b>
<b>VIII</b>	Recensement des poulaillers de poulet de chair (année 2012).....	<b>28</b>
<b>IX</b>	Les besoins alimentaires de poulet de chair selon les phases d'élevage.....	<b>30</b>
<b>X</b>	Résultats de l'identification des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées des poulaillers de Sidi-Aich (W. Béjaia) par spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	<b>67</b>
<b>XI</b>	Résultats de l'identification des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées du poulailler de la commune d'Amizour (W. Béjaia) par spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	<b>68</b>
<b>XII</b>	Résultats de l'identification des souches de <i>Lactobacillus</i> isolées du poulailler de la commune d'Amizour (W. Béjaia) par spectrométrie de masse MALDI-TOF (suite).....	<b>69</b>
<b>XIII</b>	Résultats de l'identification des souches de <i>Pediococcus</i> par spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	<b>70</b>
<b>XIV</b>	Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>Pediococcus</i> (E : Erythromycine ; AMP : Ampicilline ; TE : Tétracycline ; IPM : Imipénème).....	<b>74</b>
<b>XV</b>	Sensibilité aux antibiotiques de la souche <i>Lactobacillus plantarum</i> S27.....	<b>75</b>
<b>XVI</b>	Taux de mortalité des poussins dans les trois lots (ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique) au cours de l'étude <i>in vivo</i> .....	<b>79</b>
<b>XVII</b>	Gain pondéral moyen quotidien des poussins des trois lots (ATB :	

	antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique).....	85
<b>XVIII</b>	Effet de la souche probiotique <i>Lactobacillus plantarum</i> S27 sur le poids des carcasses et des abats.....	86

### **Liste des tableaux en annexe**

**Tableau I.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P01 et P02) de la wilaya de Bejaia.

**Tableau II.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P03 et P04) de la wilaya de Bejaia.

**Tableau III.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P05 et P06) de la wilaya de Bejaia.

**Tableau IV.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P07 et P08) de la wilaya de Bejaia.

**Tableau V.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P09 et P10) de la wilaya de Bejaia.

**Tableau VI.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (PA et PB) de la wilaya de Bouira.

**Tableau VII.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (PC et PD) de la wilaya de Bouira.

**Tableau VIII.** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (PE et PF) de la wilaya de Bouira.

**Tableau IX.** Résultats de l'enquête menée dans un poulailler de poulet de chair (PG) de la wilaya de Bouira.

# Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>01</b>
--------------------------	-----------

## Synthèse bibliographique

### **Chapitre I. Microflore du tube digestif de poulet**

1. Tube digestif de poulet.....	03
2. Flore intestinale de poulet.....	04
2.1. Mise en place et évolution de la flore.....	05
2.2. Description et localisation de la flore.....	05
2.3. Principales bactéries du tube digestif de poulet.....	07
2.4. Conséquences du déséquilibre de la flore intestinale.....	08

### **Chapitre II. Les probiotiques en aviculture**

1. Historique et définition.....	10
2. Groupes microbiens probiotiques.....	10
3. Caractéristiques des probiotiques.....	12
4. Indications des probiotiques.....	12
4.1. Indication médicamenteuse.....	12
4.2. Indication comme facteurs de croissance.....	13
5. Rôle des probiotiques en aviculture .....	13
6. Mécanismes d'action des probiotiques.....	13
6.1. Inhibition des bactéries indésirables.....	13
6.2. Neutralisation des produits toxiques.....	14
6.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire.....	14

## **Partie pratique**

### **Chapitre I. Matériel et méthodes**

1. Enquête sur l'élevage du poulet de chair et l'utilisation des antibiotiques dans les wilayas de Béjaïa et de Bouira.....	15
2. Origine des échantillons.....	15
3. Etude de certaines flores intestinales.....	16

3.1. Dénombrement et isolement des lactobacilles.....	16
3.2. Dénombrement des levures.....	17
3.3. Isolement des pédiocoques.....	17
3.4. Recherche et isolement d' <i>E. coli</i> .....	17
4. Identification phénotypique des isolats lactiques et pathogènes.....	18
5. Standardisation des <i>inocula</i> lactiques et pathogènes.....	18
6. Activité antibactérienne des isolats lactiques .....	19
7. Résistance aux conditions simulées du tube digestif (acidité et bile) des souches lactiques.....	19
8. Identification des souches lactiques retenues par spectrométrie de masse MALDI-TOF...	20
9. Propriétés de surface des souches de pedicoques.....	21
9.1. Test d'hydrophobicité.....	21
9.2. Test d'auto- agrégation.....	22
10. Pathogénicité des souches lactiques: Test d'hémolyse.....	22
11. Résistance aux antibiotiques des souches lactiques.....	22
12. Adhésion de la souche lactique sélectionnée sur les cellules intestinales.....	23
13. Etude <i>in vivo</i> de l'effet probiotique de la souche lactique sélectionnée.....	23
13.1. Lieu et durée de l'étude.....	23
13.2. Conditions d'élevage.....	24
13.3. Modèle animal.....	24
13.4. Régime alimentaire.....	24
13.5. Programme de vaccination.....	25
13.6. Administration de la souche probiotique.....	25
13.7. Paramètres étudiés.....	26
14. Analyse statistique.....	27

## **Chapitre II. Résultats et discussions**

1. Recensement des élevages de poulet de chair (année 2012).....	28
2. Résultats de l'enquête de terrain menée sur l'élevage du poulet de chair.....	29
2.1. Wilaya de Bejaia.....	29
2.2. Wilaya de Bouira.....	31
3. Etude de certaines flores intestinales.....	32
3.1. Variation du taux de lactobacilles.....	32

3.2. Variation du taux de levures.....	37
3.3. Recherche d' <i>E. coli</i> .....	40
4. Activité antibactérienne des isolats lactiques .....	41
4.1. Activité antibactérienne des isolats de <i>Lactobacillus</i> .....	41
4.2. Activité antibactérienne des isolats de <i>Pediococcus</i> .....	47
5. Résistance aux conditions simulées du transit gastro-intestinal (acidité et bile) des isolats lactiques.....	57
5.1. Résistance à l'acidité.....	57
5.2. Résistance à la bile.....	62
6. Identification moléculaire des isolats lactiques ( <i>Lactobacillus</i> et <i>Pediococcus</i> ).....	66
6.1. Identification moléculaire des isolats de <i>Lactobacillus</i> .....	66
6.2. Identification moléculaire des isolats de <i>Pediococcus</i> .....	70
7. Propriétés de surface des isolats de <i>Pediococcus</i> .....	71
7.1. Hydrophobicité.....	72
7.2. Auto-agrégation.....	73
8. Résistance aux antibiotiques des isolats de <i>Pediococcus</i> .....	74
9. Activité hémolytique des isolats de <i>Lactobacillus</i> et de <i>Pediococcus</i> .....	75
10. Résistance aux antibiotiques de <i>Lb. plantarum</i> S27.....	75
11. Capacité d'adhésion aux cellules intestinales de la souche sélectionnée.....	76
12. Etude <i>in vivo</i> .....	78
12.1. Suivi de l'implantation de la souche de lactobacille.....	78
12.2. Effet de <i>Lb. plantarum</i> S27 sur l'état sanitaire des poulets.....	79
12.3. Etude des performances zootechniques.....	82
12.4. Modifications morphologiques des segments intestinaux.....	86
<b>Conclusion.....</b>	<b>88</b>

## Références bibliographiques

### Annexe

# **Introduction**

## Introduction

L'aviculture joue un rôle très important dans le développement de nombreuses nations tant pour des raisons nutritionnelles qu'économiques. Cependant, cette filière connaît des difficultés qui freinent son développement dont diverses pathologies. En effet, l'élevage moderne en s'intensifiant place les animaux dans des conditions non naturelles (densité importante d'animaux, stress, ...) qui leur sont défavorables. De ceci découlent des problèmes de production, dont le risque majeur de pertes économiques, qui sont liés à la diminution des performances zootechniques des animaux (gain de poids faible et indice de consommation élevé) et à la baisse de leur état général de santé (désordres intestinaux, diarrhées, infections, maladies) (**Yadav et Jha, 2019**).

L'industrialisation des élevages et l'amélioration de l'efficacité nutritionnelle d'un aliment obligent les éleveurs à avoir recours à l'emploi des additifs alimentaires dont l'utilisation s'est généralisée en alimentation animale depuis de nombreuses décennies, ceci pour augmenter la production tout en maintenant un bon état de santé de ces animaux. Par conséquent, l'amélioration de la production est devenue d'une grande importance économique et a fait l'objet de nombreuses recherches (**Furuse et Okumura, 1994 ; Patterson et Burkholder, 2003**).

Utilisés, dès le début des années 40, pour traiter et prévenir les infections bactériennes, les antibiotiques ont aussi été administrés, à faible dose, dès 1946 dans l'alimentation des animaux en tant que promoteurs de croissance. L'apparition puis l'augmentation de la prévalence des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques à partir de 1960 et la mise en place, en 1970, d'une réglementation européenne concernant l'usage des additifs en alimentation animale, ont conduit à une réduction progressive de l'utilisation des antibiotiques en tant qu'additifs alimentaires (**Ferrando, 1979**). Dés lors, les antibiotiques sont progressivement remplacés par d'autres produits ayant des effets sur la croissance de l'animal. En effet, il existe de nombreuses substances alternatives aux antibiotiques, dont les enzymes, les acides organiques et inorganiques, les huiles essentielles des plantes médicinales, les prébiotiques, les probiotiques et les synbiotiques (combinaisons entre pré- et probiotiques) (**Patterson et Burkholder, 2003 ; Ohimain et Ofongo, 2012**).

Les probiotiques représentent une approche naturelle d'enrichissement de la flore intestinale et d'exclusion compétitive pour lutter contre les bactéries pathogènes. En renforçant l'écosystème microbien des volailles, les probiotiques contribuent à la défense

immunitaire et protègent les poulets contre les conséquences du stress (**Gaggia et al., 2010**). Des améliorations en termes de gain de poids et d'indice de consommation ont ainsi été observées suite à la consommation des probiotiques (**Zacconi et al., 1999 ; Kabir et al., 2004 ; Mountzouris et al., 2007**).

Plusieurs groupes microbiens ont été utilisés en élevage comme probiotiques. Parmi eux, de nouvelles souches de bactéries lactiques sont vivement recherchées; elles font partie des flores intestinales humaine et animale qui jouent un rôle important dans l'équilibre de ces flores et influencent positivement la santé de l'hôte.

Les travaux réalisés dans cette thèse rentrent dans le cadre de la recherche d'une alternative à l'utilisation des antibiotiques en aviculture et précisément dans l'élevage de poulet de chair.

Les travaux de cette thèse, seront concentrés, en premier lieu, sur l'étude de l'environnement d'élevage, à travers un questionnaire relatif aux conditions d'élevage, la souche utilisée et les pratiques de l'éleveur, dont l'utilisation des antibiotiques, et ce dans deux wilayas limitrophes, Béjaïa et Bouira. On a détaillé cette partie, sur le terrain en visitant plusieurs poulaillers, parce qu'aucune étude n'a été réalisée en Algérie concernant les paramètres l'élevage de poulet de chair, dans le but d'avoir plus d'informations sur l'environnement d'échantillonnage et de savoir s'il y a le respect des conditions d'élevage. Dans un deuxième lieu, une étude de la microflore intestinale sera menée pour déduire l'état sanitaire des poussins (de 5 jours) et des poulets (de 30 jours), dans différents poulaillers, en dénombrant les lactobacilles et les levures et en recherchant une bactérie pathogène aviaire (*Escherichia coli*) dans les fientes. On a étudié la composition de la microflore intestinale des poussins et des poulets pour avoir un aperçu général sur les genres autochtones présents. Cette étude est nouvelle approche parce qu'il n'existe pas en Algérie des études sur ce sens. Enfin, un isolement de lactobacilles et de pediocoques à partir des poulaillers de Sidi Aich et d'Amizour sera réalisé afin de sélectionner une souche potentiellement probiotique en se basant sur des critères *in vitro*, suivi d'une étude *in vivo* chez des poussins afin d'évaluer son effet sur leurs performances zootechniques et leur santé durant l'élevage.

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Microflore du tube digestif de poulet**

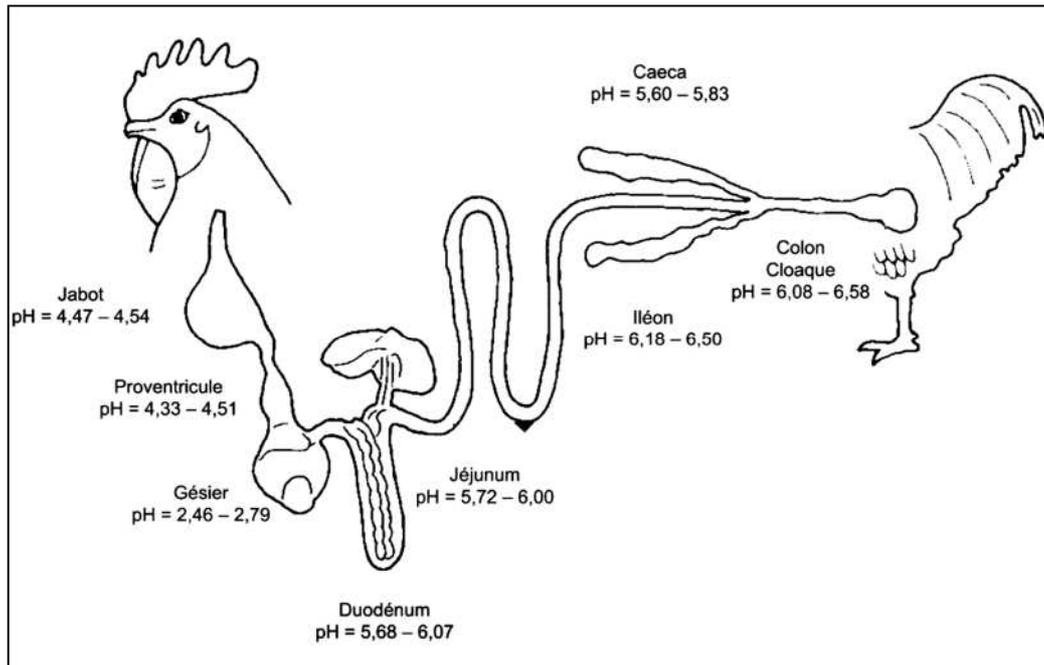
## 1. Tube digestif de poulet

Le tube digestif de poulet (figure 1) est différent de celui des autres animaux par la présence de quelques particularités anatomiques. Il présente différents compartiments ; la **cavité buccale** ne comprend ni lèvres ni dents, mais un **bec** corné qui joue un double rôle : prendre les aliments et les fragmenter partiellement. Les glandes salivaires sont peu développées de sorte que la déglutition se fait uniquement par action mécanique par redressement de la tête. Le **jabot** fait partie de l'œsophage ; il est riche en glandes à mucus avec un pH qui varie entre 4,47 et 4,54 et c'est un lieu d'entreposage des aliments qui s'y humectent et s'y ramollissent. Certains aliments (amidon) peuvent avoir une digestion microbienne au niveau du jabot. Suite à ce dernier, on trouve le **proventricule** qui représente l'estomac chimique du tube digestif par la présence de glandes sécrétoires et permet la digestion chimique. L'estomac mécanique est représenté par le **gésier**, caractérisé par une couche superficielle très dure entourée de muscles puissants, un pH très bas (2 à 3,5) et peut contenir de petits graviers, où se produit la véritable protéolyse sous l'action de la pepsine. L'intestin est caractérisé par une faible pression d'oxygène, une faible concentration en enzymes et en sels biliaires (**Bonou, 1987; Ben Abdallah, 2010; Juin et al., 2015**). La solubilisation des aliments se poursuit le long de l'intestin grêle sous l'action des sucs pancréatiques et biliaires (sécrétés par le foie dans le duodenum). Cet intestin est anatomiquement constitué du duodénum (partie descendante et ascendante), du jéjunum et de l'iléon. L'intestin grêle des oiseaux a une longueur réduite (environ 1,2 m) mais présente un fonctionnement unique associant des ondes péristaltiques et rétropéristaltiques qui permettent la digestion et l'absorption des nutriments (**Bonou, 1987; Delteil, 2012**).

Une autre partie du tube digestif permettant de stocker temporairement le chyme et les caeca, qui sont des poches allongées contenant des bactéries fermentaires réalisant une dernière digestion et absorption des nutriments avant d'atteindre le colon. Les caeca sont relativement longs (20 cm chacun chez l'adulte) qui aboutissent directement à un rectum d'environ 7 cm. Chacun possède une zone proximale étroite avec un épithélium lisse et une zone terminale plus large, siège d'une importante fermentation bactérienne. L'évacuation des caeca résulte d'une puissante contraction qui commence à base de chacun d'eux. La digestion des aliments dans le colon est très réduite. Il s'agit d'une activité bactérienne qui cependant n'hydrolyse ni la cellulose, ni les autres polysides non amylacés (**Larbier et Leclercq, 1992; Clench et Mathias, 1995**).

Les voies digestives et urinaires convergent au niveau du cloaque par lesquels sont expulsés à la fois les urines et les excréments. L'eau et les électrolytes de l'urine peuvent être

réabsorbés au niveau des caeca. L'urine alors concentrée en urates prend un aspect blanc et pâteux. Le **cloaque** est divisé en trois parties : le **coprodeum** qui peut être considéré comme une dilatation du rectum dans laquelle s'accumulent les matières fécales. L'**urodeum** auquel aboutissent les deux uretères et aussi les deux canaux déférents chez le mâle et l'oviducte chez la femelle. Une troisième partie est le **proctodeum** qui s'ouvre à l'extérieur par un double sphincter (interne lisse et externe strié) (Larbier et Leclercq, 1992; Juin et al., 2015).



**Figure 01:** Description du tube digestif de poulet (Gabriel et al., 2005)

## 2. Flore intestinale de poulet

En 1992, Freter a défini la microflore intestinale comme « un mélange complexe d'une population bactérienne colonisant un espace donné du tube digestif d'un individu humain ou animal et qui ne soit pas affecté par un traitement médical, une intervention expérimentale ou par une maladie » (Chambers et Gong, 2011). Cette population bactérienne forme un complexe commensal à l'intérieur de l'hôte fournissant un microbiote. Ce dernier joue un rôle important dans la défense contre les bactéries pathogènes. La flore digestive des oiseaux a été très étudiée et s'avère différente de celle des mammifères, probablement du fait de différences anatomiques et physiologiques (Gabriel et al., 2006).

## 2.1. Mise en place et évolution de la flore

Dans l'œuf, les poussins sont axéniques. Après éclosion, ces poussins ne sont pas protégés de l'environnement et les microorganismes colonisent rapidement leur intestin. Le microbiote commence à se développer rapidement et augmente pour donner lieu à une flore microbienne complexe. Cette microflore peut être originaire de la coquille d'œuf ou de l'incubateur, mais aussi de l'aliment, de l'eau et de l'environnement (**Furuse et Okumura, 1994; Kohl, 2012**).

Le premier jour après l'éclosion, le caecum est colonisé principalement par des espèces d'*Enterobacteriaceae*, d'*Enterococcus* et de *Lactobacillus*. A l'âge de trois jours, il n'y a pas de différence de bactéries entre l'iléon et le caecum à savoir que ce dernier contient environ  $10^9$  cellules de *Lactobacillus*. Au bout de deux semaines, les espèces de *Lactobacillus* deviennent dominantes au niveau du jabot et de l'intestin grêle alors que le duodénum et l'iléon sont colonisés majoritairement par *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Escherichia coli*. Deux espèces, *Ligilactobacillus aviarius* et *Ligilactobacillus salivarius*, prédominent la muqueuse du tractus intestinal (**Apajalahti et al., 2004 ; Chambers et Gong, 2011**).

A 14 jours d'âge, le microbiote est toujours en développement, et le caecum et l'iléon ont la même composition microbienne. Par la suite, le caecum continue à se développer et devient dominé par les anaérobies stricts (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Eubacterium* et *Gemminger*). Certains genres de la famille d'*Enterobacteriaceae* et des espèces d'*Enterococcus* et parfois de *Clostridium* prennent une place tout au long du tube digestif (**Apajalahti et al., 2004 ; Stanley et al., 2014**).

La densité bactérienne des poussins d'un jour au niveau de l'iléon et du caecum est comprise entre  $10^8$  et  $10^{10}$  UFC/g respectivement. Deux jours après, cette population augmente à  $10^9$  et  $10^{11}$  UFC/g et reste relativement stable jusqu'à 30 jours d'âge. A 42 jours d'âge, l'iléon contient environ  $10^8$ - $10^9$  UFC/g et le caecum  $10^{10}$ - $10^{11}$  UFC/g. Au niveau du jabot, le taux de lactobacilles augmente de  $10^6$  à  $10^9$  UFC/g durant la période allant du 1<sup>er</sup> au 7<sup>ème</sup> jour et est compris entre  $10^8$  et  $10^{8,5}$  UFC/g à l'âge de 42 jours (**Gabriel et al., 2006; Chambers et Gong, 2011 ; Albazaz et Büyükunal Bal, 2014**).

## 2.2. Description et localisation de la flore

Plusieurs facteurs caractéristiques de la microflore ou de l'hôte peuvent être impliqués dans l'implantation de certaines espèces dans des sites bien spécifiques du tube digestif. Sur la paroi bactérienne, des déterminants spécifiques de la surface cellulaire peuvent être des

médiateurs dans l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales du tube digestif et augmenter ainsi la stabilité de l'adhésion. La quantité d'oxygène diminue de haut en bas du tube digestif. Cette variation permet d'expliquer la différence de cette flore d'un site à un autre du tube digestif. Une faible quantité d'oxygène favorise la coexistence de bactéries aérobies, anaérobies facultatives et anaérobies obligatoires qui tirent profit l'une de l'autre. Ainsi, l'utilisation de l'oxygène par les bactéries aérobies permet de réduire la quantité d'oxygène nécessaire pour les anaérobies obligatoires et les anaérobies facultatifs. Ces dernières sont capables de modifier leurs métabolismes en fonction de la quantité d'oxygène (**Yan et Gilbert, 2004**).

D'autres facteurs en relation avec l'hôte peuvent influencer la composition de la microflore, comme le pH, la motricité intestinale, le régime alimentaire et les composantes du système immunitaire. **Le pH acide** élimine la majorité des bactéries ingérées et empêche ces bactéries à coloniser soit l'estomac (proventricule et gésier) ou l'intestin grêle. **La motricité péristaltique** intestinale empêche la prolifération et la migration des microorganismes intestinaux. **Des fractions glucidiques liées aux protéines** de surface cellulaire jouent probablement un rôle important dans l'adhésion bactérienne aux cellules de bordure épithéliale. Le régime alimentaire, source des différents substrats, affecte la composition de la microflore intestinale chez l'animal (**Fuller, 1984; Yan et Gilbert, 2004 ; Yadav et Jha, 2019**).

La microflore intestinale des volailles est composée essentiellement de bactéries à Gram positif anaérobies facultatives du jabot à l'iléon terminal, alors que le caecum contient en plus des espèces anaérobies strictes, ces dernières étant dominantes. Cette microflore intestinale augmente tout au long du tube digestif de  $10^5$  UFC/g dans le duodénum à  $10^7$ - $10^{12}$  UFC/g de l'iléon au colon (**Roto et al., 2015 ;Yadav et Jha, 2019**). Le nombre des principaux groupes microbiens présents dans les différentes parties du tube digestif de poulet est indiqué dans le tableau I.

Les méthodes classiques d'identification des bactéries indiquent que le jabot est composé principalement du genre *Lactobacillus*, en plus des streptocoques, des coliformes et des levures. La présence, dans le duodénum, d'enzymes digestives, d'une forte pression en oxygène et d'une forte concentration en composés antimicrobiens fait de cette partie du tube digestif de poulet un milieu défavorable au développement de la flore bactérienne. Ces différents facteurs présents dans le duodénum sont, par contre, diminués dans le reste de l'intestin (jejunum et iléon) ce qui fait de lui un environnement favorable à la croissance bactérienne (**Gabriel et al., 2005; Ben Abdallah, 2010 ; Yadav et Jha, 2019**).

**Tableau I.** Nombre de microorganismes viables ( $\log_{10}/g$  de contenu) des groupes majoritaires dans le tube digestif de poulet (Gabriel et al., 2003).

Nombre	Jabot	Gésier	Duodénum	Iléon	Caecum
Lactobacilles	8,7	7,3	8,0	8,6	8,7
Entérocoques	4,0	3,7	4,0	4,2	6,7
Coliformes	1,7	-	2,0	2,7	5,6
Levures	2,7	-	1,7	-	2,0
Clostridium	-	-	(-)	(-)	9,0
Anaérobies obligatoires non sporulants	-	-	-	-	10,0
Streptocoques anaérobies	-	-	-	-	10,0

- :  $\log < 1$  ; (-) : pas toujours présent

### 2.3. Principales bactéries du tube digestif de poulet

Plusieurs espèces bactériennes du tube digestif ne sont pas détectables par les méthodes de culture standard, d'un côté, à cause des conditions de croissance qui sont inconnues et d'un autre côté, il existe des éléments de croissance qui se trouvent seulement dans le tube digestif. En conséquent, la grande partie de la microflore intestinale est inconnue (Lu et al., 2003; Yan et Gilbert, 2004).

#### 2.3.1. Flore dominante

C'est la microflore résidente, autochtone ou indigène. Elle représente 90% de la flore totale avec un nombre supérieur à  $10^6$  UFC /g de contenu. Elle est composée principalement de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* et *Bacteroides* (Chouder, 2006; Yadav et Jha, 2019).

#### 2.3.2. Flore sous dominante

Elle représente 1% de la flore totale avec un nombre entre  $10^3$  à  $10^5$  UFC/g de contenu. Elle comprend *E. coli*, *Enterococcus* et *Streptococcus*. C'est la flore surajoutée, acquise par l'alimentation, l'environnement ; c'est la microflore intermédiaire, de protection et de tolérance. Elle change avec le changement de son environnement (alimentation) et en renouvellement permanent, car elle est plus ou moins fixée sur les villosités intestinales et desquame avec les cellules épithéliales (Yadav et Jha, 2019).

### 2.3.3. Flore résiduelle

Le taux de cette flore est inférieur à 0,01%, avec un nombre inférieur à  $10^3$  UFC/g du contenu digestif. Elle comporte *Proteus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et des levures appartenant au genre *Candida*, ainsi que des bactéries à pouvoir pathogène potentiel: *Salmonella*, *Campylobacter* et *E. coli* (Albazaz et Büyükünbal Bal, 2014; Yadav et Jha, 2019).

La composition de la flore intestinale résiduelle peut être modifiée par l'ingestion de microorganismes qui transitent dans le tractus digestif, sans trouver de niche écologique pour se développer (Chouder, 2006).

### 2.4. Conséquences du déséquilibre de la flore intestinale

Les poulets sont prédisposés à de nombreuses infections en particulier celles des systèmes gastro-intestinal et respiratoire. Malgré une amélioration importante des conditions d'hygiène et de salubrité dans le domaine de la production et de l'élevage de volailles, les infections entériques chez ces espèces persistent ce qui causent des pertes économiques importantes pour l'éleveur. Les animaux atteints de maladies gastro-intestinales manifestent un gain de poids de moins en moins important ainsi que des signes de faiblesse. Ceux sérieusement atteints peuvent mourir peu de temps après l'observation des premiers signes cliniques. Selon les conditions d'élevage, l'augmentation de la densité d'élevage ou le stress thermique semble globalement augmenter les bactéries néfastes au détriment des bactéries bénéfiques (Ben Abdallah, 2010).

L'utilisation des antibiotiques permet d'améliorer la croissance et de lutter contre les maladies mais, il a été rapporté que cette utilisation ne réduit pas seulement la stabilité de la microflore mais aussi le nombre de *Lactobacillus* (Chambers et Gong, 2011).

Le stress est l'un des facteurs les plus importants qui induit des perturbations de la microflore intestinale du poulet de chair. Au cours de leur élevage, les poulets sont soumis à de nombreux stress tels que la densité d'élevage, les variations de température ou l'infestation par des parasites intestinaux comme les coccidies qui modifient la flore intestinale (Yadav et Jha, 2019).

#### 2.4.1. Colibacillose

Les colibacilloses sont sans doute les infections bactériennes les plus fréquentes et les plus importantes en pathologie aviaire. Elles peuvent entraîner de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir. Le jeune âge, le stress, un taux élevé d'ammoniac, une baisse de la température et des infections concomitantes, favorisent la colibacillose.

Certaines souches d'*E. coli* intestinales provoquent des infections appelées entérite (affection de l'intestin grêle qui entraîne une nécrose de la muqueuse, due au développement secondaire de *Clostridium perfringens*). La transmission verticale de ces souches est possible mais rare (Glisson, 1998).

#### 2.4.2. Salmonelloses

Cette maladie est due aux différents serotypes de *Salmonella*. Plus de 200 serotypes de salmonelles sont connus chez la volaille. *Salmonella* Typhimurium est considérée le serotype le plus incriminé dans les salmonelloses aviaires provoquant les formes cliniques les plus graves, surtout chez les jeunes poussins prenant une allure septicémique, avec une mortalité brutale dans les jours qui suivent l'éclosion. On observe également de nombreuses mortalités en coquille, des signes non spécifiques tels que la tête basse, les plumes ébouriffées, les yeux mi-clos et les ailes tombantes. La consommation des aliments chute tandis que celle de l'eau augmente. Les sujets atteints ont une diarrhée aqueuse et se regroupent autour des sources de chaleur (Duffy et al., 2012).

Un autre serotype à l'origine de cette maladie est *Salmonella* Gallinarum Pullorum. On observe tout d'abord une diminution de l'éclosabilité dès le sixième jour et après le quinzième jour d'incubation, associée à une mortalité en coquille. Une infection *in ovo* entraîne un pic de mortalité vers les 4 et 5<sup>èmes</sup> jours tandis que le pic de mortalité lors d'une infection post-natale survient vers le 15<sup>ème</sup> jour (Castagnos, 2003).

Des porteurs sains sont le plus fréquemment rencontrés. Dans ce cas, les salmonelles peuvent être isolées de différentes portions de l'intestin par culture sur milieux sélectifs. Les symptômes sont observés essentiellement chez les poussins de moins de 15 jours et sont rares sur les volailles de plus de 4 semaines (Humbert et Salvat, 1997).

Chez les poulets de chair, on distingue deux formes de pullorose (une maladie dont l'atteinte est principalement limitée au tractus digestif) :

- La forme aiguë qui se caractérise par une atteinte de l'état général des oiseaux (fort abattement, somnolence, plumes ébouriffées, yeux mi-clos,...), une diarrhée blanche, crayeuse qui a la particularité de se coller aux pourtours de l'anus allant jusqu'à l'obstruer (Castagnos, 2003).
- La forme subaiguë à chronique : l'infection se localise à l'appareil ostéo-articulaire avec des arthrites tibio-métatarsiennes ou se traduit par des torticolis ou des œdèmes sous-cutanés. Cette forme pénalise fortement les résultats technico-économiques du lot infecté avec un taux de mortalité ou de non-valeurs économiques de 10 à 20 % (Castagnos, 2003).

# **Chapitre II**

## **Les probiotiques en aviculture**

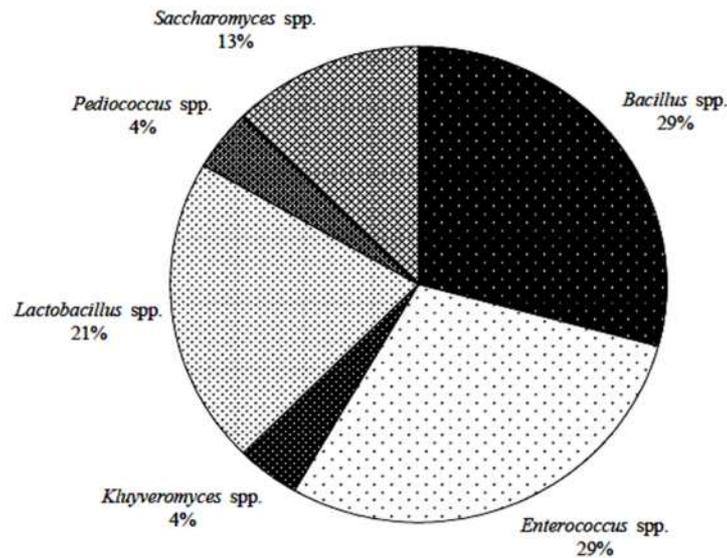
## **1. Historique et définition**

La définition d'un probiotique a été modifiée au fil du temps en fonction des connaissances sur son mécanisme d'action. Le terme probiotique a été utilisé, bien avant par divers chercheurs, mais c'est pour la première fois que le terme «microorganisme» a été inclus dans la définition de probiotique par Lilly et Stillwell en 1965 pour le décrire comme des substances secrétées par un protozoaire et qui stimulent la croissance d'un autre protozoaire (**Fuller, 1992**). Parker (1974) fut le premier à l'employer dans le sens actuel, selon lui, un probiotique est « un organisme ou une substance qui contribue à l'équilibre microbien intestinal ». Révisée par Fuller en 1989, la définition de Parker est devenue « un supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'animal hôte en améliorant son équilibre microbien intestinal ». Cette définition a été élargie par Havenaar en 1992 à « une culture simple ou mixte de microorganismes viables qui, ingérés en un certain nombre exercent des effets bénéfiques sur la santé au-delà de ceux dus à la nutrition de base ». Enfin en 2001, Schrezenmeir révisé à nouveau la définition d'un probiotique et devient alors « une préparation ou un produit contenant des microorganismes viables en nombre suffisant, qui altère la microflore (par implantation ou colonisation) dans un compartiment de l'hôte et de ce fait exerce des effets bénéfiques sur la santé ». Enfin, le comité mixte de la FAO/OMS, en 2009, a établi une définition officielle du terme « probiotique » dans les aliments: « Microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte » (**Ezema, 2013**).

## **2. Groupes microbiens probiotiques**

Les scientifiques découvrent de nouveaux probiotiques chaque jour. Les groupes les plus couramment utilisés comme probiotiques en alimentation animale sont : lactobacilles, bifidobactéries, propionibactéries, *E. coli*, entérocoques, les levures (*Saccharomyces*) et *Bacillus* (**Andrieu, 1995 ; Yirga, 2015 ; Yadav et Jha, 2019**).

Les principaux genres autorisés en alimentation animale sont présentés dans la figure 2 et les principaux probiotiques étudiés pour des applications en alimentation animale sont donnés dans le tableau II.



**Figure 02:** Représentation des différents genres microbiens autorisés en tant qu’additifs en alimentation porcine et avicole en Europe (Bernardeau et Vernoux, 2009).

**Tableau II.** Probiotiques étudiés pour des applications en alimentation animale (Gaggia et al., 2010).

Genre	Espèce
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bf. animalis</i> ssp. <i>animalis</i> ( <i>Bf. animalis</i> ), <i>Bf. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> ( <i>Bf. lactis</i> ) <i>Bf. longum</i> ssp. <i>longum</i> ( <i>Bf. longum</i> ), <i>Bf. pseudolongum</i> ssp. <i>pseudolongum</i> ( <i>Bf. pseudolongum</i> ), <i>Bf. thermophilum</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>En. faecalis</i> ( <i>Streptococcus faecalis</i> ), <i>En. faecium</i> ( <i>Streptococcus faecium</i> )
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. acidophilus</i> ; <i>Lb. amylovorus</i> ; <i>Lb. brevis</i> ; <i>Lb. casei</i> ssp. <i>casei</i> ( <i>Lb. casei</i> ) ; <i>Lb. crispatus</i> ; <i>Lb. farmicinis</i> ; <i>Lb. fermentum</i> ; <i>Lb. murinus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ssp. <i>plantarum</i> ( <i>Lb. plantarum</i> ) ; <i>Lb. reuteri</i> ; <i>Lb. rhamnosus</i> ; <i>Lb. salivarius</i> ; <i>Lb. amylovorus</i> ( <i>Lb. sobrius</i> ) ;
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> ( <i>Streptococcus cremoris</i> ) ; <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> ( <i>Streptococcus lactis</i> );
<i>Leuconostoc</i>	<i>Ln. citreum</i> ; <i>Ln. lactis</i> ; <i>Ln. mesenteroides</i> ;
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i> ; <i>P. pentosaceus</i> ssp. <i>pentosaceus</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. freudenreichii</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Str. infantarius</i> ; <i>Str. salivarius</i> ssp. <i>salivarius</i> ; <i>Str. thermophilus</i> ( <i>Str. salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> )
<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i> ( <i>B. cereus</i> var. <i>Toyoi</i> ) ; <i>B. licheniformis</i> ; <i>B. subtilis</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>Sach. cerevisiae</i> ( <i>Sach. boulardii</i> ), <i>Sach. pastorianus</i> ( <i>Sach. carisbergensis</i> )
<i>Kluyveromyces</i>	<i>K. fragilis</i> ; <i>K. marxianus</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>A. orizae</i> , <i>A. niger</i>

### 3. Caractéristiques des probiotiques

En plus d'assurer l'absence de toxicité ou de pathogénicité de la souche, et afin de satisfaire à la définition des probiotiques, les microorganismes doivent survivre, persister temporairement dans le tractus digestif et montrer une activité qui doit se traduire par des effets positifs pour l'hôte (**Esther Izquierde, 2009; Ben Abdallah, 2010**).

Les microorganismes potentiellement probiotiques doivent donc être sélectionnés selon différents critères qui sont décrits dans le tableau III.

**Tableau III.** Principaux critères utilisés pour la sélection des microorganismes probiotiques chez l'animal (**Ezema, 2013**).

<b>Critères de sécurité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Historique de non pathogénicité</li> <li>• Aucune possibilité de transmission de gènes de résistance aux antibiotiques</li> <li>• Pas de déshydroxylation des sels biliaires</li> </ul>
<b>Critères fonctionnels</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tolérance à l'acidité gastrique</li> <li>• Tolérance à la bile</li> <li>• Antagonisme vis-à-vis des agents pathogènes et production de substances antimicrobiennes (bactériocines)</li> <li>• Adhésion à diverses lignées de cellules intestinales et/ou au mucus</li> <li>• Stimulation du système immunitaire</li> <li>• Etre capable d'exercer un effet bénéfique sur la santé de l'animal</li> <li>• Rester vivants en nombre important</li> <li>• Etre stable et rester vivant durant la période de stockage</li> </ul>
<b>Critères technologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini</li> <li>• Conservation des propriétés probiotiques après production.</li> </ul>

### 4. Indications des probiotiques

Les probiotiques sont administrés, par voie orale, à des doses différentes suivant l'effet recherché (médicament ou facteur de croissance), mais surtout pendant un laps de temps variable : 3 à 7 jours comme médicament, 30 à 90 jours comme facteur de croissance (**Tournut, 1989**).

#### 4.1. Indication médicamenteuse

Cette indication signifie un effet de barrière préventif (avant l'introduction d'un microorganisme pathogène) ou curatif (en présence d'un microorganisme pathogène) du probiotique introduit. L'effet du probiotique sur l'agent pathogène, dans cette indication, peut être drastique (élimination du microorganisme pathogène sans multiplication) ou permissif (maintien à bas niveau de l'agent pathogène) (**Tournut, 1989**).

#### **4.2. Indication comme facteurs de croissance**

Une dose minimale (estimée de  $10^6$  à  $10^7$ /g d'aliment) doit être utilisée dans ce but. Cette dose doit être quotidienne et persister pendant un à deux mois, avec la persistance aussi de l'agent probiotique dans la lumière intestinale (**Tournut, 1989**).

#### **5. Rôle des probiotiques en aviculture**

Les probiotiques peuvent être utilisés pour plusieurs effets :

- Augmentation de la production des œufs, diminution de la mortalité, amélioration du taux de conversion. De façon générale, les souches probiotiques possèdent une efficacité reconnue sur le taux de ponte des poules (**Yoruk et al., 2004**).
- Augmentation du gain de poids (**Rodriguer et al., 2007**).
- Effet prophylactique (antagonisme contre certains agents pathogènes) (**Gaggia et al., 2010**).
- Effet nutritionnel (augmentation de la digestibilité, production de nutriments favorables) (**Chaucheyras-Durand et Durand, 2010**).
- Effet de détoxification (moindre production d'ammoniac, d'amines, ou de cytotoxines) (**Patterson et Burkholder, 2003**).
- Activation du système immunitaire et modification de la structure et des fonctions de l'épithélium intestinal (**Netherwood et al., 1999**).
- Amélioration de la qualité de la viande grâce à la réduction du cholestérol (**Pelicano et al., 2003**).

#### **6. Mécanismes d'action des probiotiques**

D'une façon générale, l'efficacité des probiotiques est liée à leur durée de présence dans le tube digestif ce qui n'implique pas forcément qu'ils puissent le coloniser ou s'y développer. Chez l'animal monogastrique, ils agissent comme des régulateurs de la flore intestinale (**Netherwood et al., 1999**).

##### **6.1. Inhibition des bactéries indésirables**

La répression du développement de microorganismes indésirables ou pathogènes peut se faire à travers plusieurs mécanismes dont :

- La production d'acides organiques à partir des glucides de la ration alimentaire : acides lactique, acétique, propionique et butyrique limite, en abaissant le pH, le développement d'*E. coli* et de *Salmonella* (**Salminen, 1999; Krehbiel et al., 2003; Grajek et al., 2005**).

- La production de peptides antimicrobiens de type bactériocine ou reutéline qui sont capables d'inhiber les microorganismes fréquemment responsables d'infections en élevage (**Percival, 1997; Van Belkum et Stiles, 2000**).
- Déconjugaison des sels biliaires : les formes déconjuguées ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries que les formes conjuguées (**Bezkorovany, 2001; Marteau, 2001**).
- Compétition pour les nutriments entre les probiotiques et les bactéries indésirables (**Casas et Dobrogosz, 2000**).
- Compétition pour la colonisation : l'adhésion des bactéries probiotiques aux cellules intestinales permettrait une colonisation rapide et dirigée du tube digestif et empêcherait l'installation des microorganismes pathogènes (**Soomro et al., 2002, Moreira et al., 2005**).

## **6.2. Neutralisation des produits toxiques**

Les probiotiques interviennent dans la neutralisation de produits toxiques. Ils provoqueraient une atténuation du catabolisme intra- digestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniac, amines et indole) et diminuer les biotransformations 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**).

## **6.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire**

Les souches probiotiques produisent des enzymes digestives, ce qui favorise la digestion des glucides et des protéines. Cette digestion permet de produire des acides gras à chaîne courte qui sont utilisés comme source d'énergie (**Ghadban, 2002; Lee et al., 2006**).

La digestibilité de la ration alimentaire pourrait être également augmentée par la prédigestion des facteurs antinutritionnels tels que l'acide phytique et les glucosinates en substrats assimilables par l'hôte. Les souches probiotiques permettraient, aussi, d'améliorer l'assimilation des acides aminés essentiels par l'hôte soit en les synthétisant soit en inhibant l'action des désaminases et des décarboxylases bactériennes excrétées par la microflore du tube digestif. De nombreuses bactéries utilisées comme probiotiques synthétisent des vitamines pouvant être assimilées par l'hôte (**Salminen et al., 1998 ; Netherwood et al., 1999**).

# **Partie pratique**

# **Chapitre I**

## **Matériel et méthodes**

## **1. Enquête sur l'élevage du poulet de chair et l'utilisation des antibiotiques dans les wilayas de Béjaia et de Bouira**

Vu que les prélèvements vont être effectués au niveau de poulaillers de la région d'Amizour et de Sidi-Aich (Béjaia) et de poulaillers de certaines régions de la wilaya de Bouira et afin d'avoir une idée sur l'importance de l'élevage de poulet de chair dans ces deux wilayas, une enquête a été entreprise en se basant sur les données des directions des services agricoles (DSA). De plus, afin de voir les conditions d'élevage et la fréquence de l'usage des antibiotiques, un sondage a été mené auprès des éleveurs en rendant visite à dix poulaillers privés situés dans la wilaya de Béjaia (à la phase de croissance : 30 jours d'âge) et sept poulaillers privés situés dans la wilaya de Bouira (3 poulaillers à la phase de démarrage : 5 jours d'âge et 4 autres à la phase de croissance : 30 jours d'âge).

## **2. Origine des échantillons**

Des poulaillers différents de la wilaya de Bejaia (commune d'Amizour : Amizour, Merdj Ouamane, Afraa et la commune de Sidi-Aich : Chemini) et de quatre localités de la wilaya de Bouira (Ait Lazziz, Ahl El Ksar, Ouled Rached et Taghzout) ont fait l'objet de cette partie de travail (tableau IV). Des échantillons de fientes (30 échantillons/ poulailler de la région de Sidi-Aich et 6 échantillons/poulailler de la région d'Amizour pour la wilaya de Bejaia; et 10 échantillons/ poulailler de différentes régions de la wilaya de Bouira) ont été obtenus à partir de poussins de 5 jours ou de poulets de 30 jours (tableau IV). Des échantillons de chaque individu, prélevés dans chaque wilaya, ont été transportés immédiatement dans des pots stériles et dans une glacière (à 4°C) jusqu'au laboratoire au niveau des universités de Bejaia ou de Bouira respectivement.

Les conditions de prélèvements ont été les mêmes pour les individus du même poulailler à savoir : même catégorie d'âge (5 ou 30 jours), même bâtiment, même jour, même sexe, même type d'alimentation et ayant les mêmes conditions d'élevage (lumière, température, humidité et aération). Tous ces facteurs peuvent avoir un effet sur la composition de la microflore intestinale. Ainsi, on a fixé ces paramètres pour étudier la variation de la flore en fonction des individus.

**Tableau IV.** Echantillons de fientes prélevés dans les différents poulaillers

Echantillon	Poulailler	Age (jours)	Lieu de prélèvement
<b>Wilaya de Béjaia</b>			
E1 à E30	Poulailler 01	5 et 30	Sidi-Aich (Chemini)
E1 à E6	Poulailler 06	30	Amizour
E1 à E6	Poulailler 08		Afraa
E1 à E6	Poulailler 10	5 et 30	Merdj Ouamane
<b>Wilaya de Bouira</b>			
E1 à E10	Poulailler A	5	Ait Lazziz
	Poulailler E		Taghzout
	Poulailler F		
	Poulailler B	30	Ahl El Ksar
	Poulailler C		Ouled Rached
	Poulailler D		
	Poulailler G		

### 3. Etude de certaines flores intestinales

La variation de certaines flores microbiennes, en fonction de l'âge, a été étudiée chez les poussins de 5 jours (1 poulailler à Béjaia et 3 poulaillers à Bouira) et les poulets de 30 jours (3 poulaillers à Béjaia et 4 poulaillers à Bouira), pris au hasard dans les différents poulaillers. Le nombre d'échantillons de fientes prélevés a été de 6 échantillons/poulailler pour la wilaya de Béjaia et de 10 échantillons/poulailler pour la wilaya de Bouira. L'étude consiste en un dénombrement des lactobacilles et des levures, un isolement des pédiocoques, et une recherche d'*E. coli* à partir d'échantillons de fientes fraîches. Pour le dénombrement, un gramme de fiente de chaque échantillon a été mélangé dans 9 ml d'eau physiologique (8,5 g/l NaCl), par la suite des dilutions décimales ont été réalisées à partir de la solution mère ( $10^{-1}$ ).

#### 3.1. Dénombrement et isolement des lactobacilles

Le dénombrement des lactobacilles a été réalisé chez des poussins de 5 jours (poulailler 10 de Béjaia ; poulaillers A, E et F de Bouira) et sur des poulets de 30 jours (poulaillers 06 ; 08 et 10 de Béjaia et poulaillers B ; C ; D et G de Bouira). Un volume de 1 ml de dilution ( $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  et  $10^{-9}$ ) a été ensemencé en masse dans de la gélose MRS (de Man Rogosa et Sharpe ; Liofilchem, Italie) acidifiée à pH 5,4. L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 48 h.

Après dénombrement, un isolement des souches de *Lactobacillus* a été réalisé à partir du poulailler 01 de la commune de Sidi-Aich (30 échantillons) et du poulailler 10 de la région d'Amizour. Cet isolement a été réalisé en surface de la gélose MRS, avec une incubation de 48 h à 37°C. Des colonies pures ont été obtenues après plusieurs repiquages sur la même gélose. La pureté a été vérifiée par observation de l'aspect macroscopique sur gélose et de l'aspect microscopique après une coloration de Gram (**De Angelis et al., 2006 ; Maldonado et al., 2012**).

### **3.2. Dénombrement des levures**

Le dénombrement des levures a été réalisé sur des échantillons de fientes prélevés des poulaillers de Bejaia et Bouira. Ce dénombrement concernait les poussins de 5 jours (poulailler 10 de Bejaia et poulaillers A, E et F de Bouira) et des poulets de 30 jours (poulaillers 06, 08 et 10 de Bejaia et poulaillers B, C, D et G de Bouira). Un ensemencement en masse a été réalisé avec 1 ml de dilution ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ ) dans de la gélose OGA (Oxytetracycline Glucose Agar) base additionnée d'oxytetracycline (0,2 % ; v/v). L'incubation a été réalisée à 25°C pendant 72 h (**García-Hernández et al., 2012**).

### **3.3. Isolement des pédiocoques**

L'isolement des pédiocoques a été réalisé sur l'ensemble des échantillons de fientes collectés des poulaillers (06, 08 et 10) de la wilaya de Bejaia (commune d'Amizour) aussi bien à partir des poussins de 5 jours (poulailler 10) que des poulets de 30 jours (poulaillers 06, 08 et 10). Un enrichissement a été réalisé en suspendant 1 g de fientes dans 9 ml de bouillon MRS, suivi d'une incubation à 37°C/24 h. Puis un isolement en stries a été effectué sur la gélose MRS à partir de la culture en bouillon. L'incubation a été réalisée à 37°C/48 h. Les isolats ayant donné des colonies ayant un aspect microscopique caractéristique des pédiocoques ont été repiqués plusieurs fois dans le but d'obtenir des souches pures. La pureté a été vérifiée par observation de l'aspect macroscopique sur gélose et de l'aspect microscopique après une coloration de Gram (**Raghavendra et Halami, 2009**).

### **3.4. Recherche et isolement d'*E. coli***

Des échantillons de fientes ont été prélevés chez des poulets de 30 jours des poulaillers 06, 08 et 10 de la commune d'Amizour (wilaya de Bejaia) et chez des poussins de 5 jours des poulaillers A, E et F et des poulets de 30 jours des poulaillers B, C, D et G de différentes régions de la wilaya de Bouira et servis pour la recherche d'*E. coli*. Un échantillon de 0,5 g de fientes a été suspendu dans 5 ml de bouillon nutritif (Pronadisa, conda SA, Espagne) et incubé

à 37°C/24 h. Après incubation, la gélose à l'éosine et au bleu de méthylène (EMB) (Liofilchem, Italie) a été ensemencée en stries à partir de la culture en bouillon. Une souche d'*E. coli* a été isolée lors d'une colibacillose survenue lors de l'élevage (étude *in vivo*) et nommée *E. coli* SL-2016 (commune de Sidi-Aich, wilaya de Bejaia).

Les boîtes ont été incubées à 44°C/24 h. Les isolats ayant donné des colonies caractéristiques d'*E. coli* ont été repiqués plusieurs fois dans le but d'obtenir des souches pures. La pureté a été vérifiée par observation de l'aspect macroscopique sur gélose et de l'aspect microscopique après une coloration de Gram (Tutenel et al., 2003).

#### **4. Identification phénotypique des isolats lactiques et pathogènes**

Les premiers tests d'identification phénotypique réalisés sur tous les groupes bactériens ont été, l'aspect macroscopique des colonies sur le milieu de culture, l'aspect microscopique des cellules après coloration de Gram (forme, Gram et agencement des cellules) et présence/absence d'une catalase (lactobacilles et pedicocques).

Pour l'identification d'*E. coli*, des tests physiologiques et biochimiques ont par la suite été appliqués, à savoir le test de mobilité (milieu mannitol-mobilité, Institut Pasteur d'Algérie, Algérie), présence/absence d'oxydase (disques oxydase, HiMedia Laboratoire Pvt, Ltd, Inde), d'une nitrate-réductase, d'une  $\beta$ -galactosidase (disques ONPG, Orthonitrophenylgalactoside, HiMedia Laboratoire Pvt, Ltd, Inde), fermentation de lactose, saccharose et production de H<sub>2</sub>S (milieu TSI, Triple Sugar Iron, Laboratorios Conda S.A, Pronadisa, Espagne), production d'acides mixtes/Acétone (tests au rouge de méthyle/Vosges-Prauskawer, RM/VP dans le milieu Clark et Lubs, HiMedia laboratories Pvt, Ltd, Inde), utilisation du citrate comme seule source de carbone (milieu au citrate de Simmons, Titan Biotech LTD, Inde) et production d'indole-dégradation de l'urée (milieu Urée-Indole, Biochem Chemopharma, Canada) (Delarras, 2014).

#### **5. Standardisation des *inocula* lactiques et pathogènes**

Dans le but d'utiliser les souches lactiques isolées dans la suite des tests, une standardisation de leurs *inocula* a été réalisée. Pour cela, trois colonies sur gélose MRS de 48 h ont été suspendues dans 5 ml de bouillon MRS et incubées durant 18 h à 37°C. Après incubation, des dilutions décimales ont été réalisées, puis 1 ml de dilutions ( $10^{-7}$  et  $10^{-8}$ ) a été ensemencé en masse dans la gélose MRS. Le dénombrement a été réalisé après 48 h d'incubation à 37°C.

Une standardisation des *inocula* des souches d'*E. coli*, isolées dans cette étude (dont *E. coli* SL-2016), ainsi que des souches de référence (*E. coli* ATCC 25922, *Salmonella*

*enterica* CIP 81-3, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Listeria innocua* CIP 74915), faisant partie de la collection des souches pathogènes du laboratoire de Microbiologie Appliquée (U. Bejaia), a également été réalisée. Une colonie a été ensemencée dans 5 ml de bouillon nutritif et incubé à 37°C pendant 18 h. Après incubation, des dilutions décimales ont été effectuées à partir de cette culture et un dénombrement a été réalisé dans de la gélose EMB (*E. coli*), Hektoen (*Sal. enterica*), Chapman (*S. aureus*) et Palcam (*L. innocua*).

## **6. Activité antibactérienne des isolats lactiques**

Les isolats présumés appartenir aux genres lactiques (*Lactobacillus* et *Pediococcus*) provenant des poulaillers de la wilaya de Bejaia (29 isolats de *Lactobacillus* et 19 isolats de *Pediococcus* de la commune d'Amizour et 22 isolats de *Lactobacillus* de la commune de Sidi-Aich) ont été testés quant à leur activité antibactérienne. Cette activité a été évaluée vis-à-vis des souches d'*E. coli* isolées des poulaillers de la région d'Amizour et de la région de Sidi-Aich (wilaya de Bejaia) ainsi qu'à l'égard de quatre souches de référence (*E. coli* ATCC25922, *Salmonella enterica* CIP 81-3, *S. aureus* ATCC25923 et *L. innocua* CIP 74915).

L'activité antibactérienne des isolats lactiques à l'égard des souches cibles a été mise en évidence par un test d'antagonisme direct : test des spots (**Schillinger et Lucky, 1989**). Après avoir rempli les boîtes de Petri avec de la gélose MRS (solidifiée et séchée), 5 µl de la suspension bactérienne de chaque isolat lactique ( $10^9$  UFC/ml) ont été déposés en spots. Les boîtes ont été séchées près du bec bunsen pendant 30 min puis incubées à 37°C pendant 18 h. Après la période d'incubation, les boîtes ont été recouvertes de 10 ml d'une gélose Muller-Hinton (Liofilchem, Italie) en surfusion ensemencée avec 1 ml des cultures fraîches des souches cibles ( $10^6$  UFC/ml), puis incubées à 37°C pendant 24 h. Au terme de la période d'incubation, la présence ou l'absence de zones d'inhibition autour des spots a été notée. L'inhibition a été considérée positive lorsque le diamètre de la zone d'inhibition a été supérieur à 2 mm (**Schillinger et Lucky, 1989**)

## **7. Résistance aux conditions simulées du tube digestif (acidité et bile) des souches lactiques**

Une culture de 18 h ( $10^9$  UFC/ml) des isolats lactiques (*Lactobacillus* et *Pediococcus*) a été centrifugée à 8000 g/ 20 min à 4°C (centrifugeuse Hettich, zentrifugen, Allemagne). Le culot a été lavé deux fois avec du tampon PBS (Phosphate Buffered Saline, 20 mM, pH 7) puis suspendu dans du bouillon MRS (*Lactobacillus*) ou du tampon PBS (*Pediococcus*) ajusté à différents pH (1; 1,5 ; 2 ; 2,5 ou 3) et incubé pendant 2 h (*Lactobacillus* ou *Pediococcus*) ou

3 h (*Pediococcus*) à 37°C. Le taux de survie a été calculé en comparant le nombre de cellules viables obtenu par dénombrement en masse dans de la gélose MRS avant et après incubation aux différents pH suivant la formule :

$$\text{Taux de survie} = \frac{\text{Nombre de cellules au } t_{2h \text{ ou } 3h}}{\text{Nombre de cellules au } t_0} \times 100$$

La résistance à la bile a été testée avec une culture de 18 h, centrifugée à 8000 g/20 min à 4°C. Le culot a été lavé deux fois avec du PBS (20 mM, pH 7,2) puis suspendu dans le même tampon ou du bouillon MRS supplémenté de différentes concentrations de bile (0,1 % ; 0,3 % et 0,5 % ; m/v). Le dénombrement a été réalisé avant et après une incubation de 4 h à 37°C et le taux de survie a été calculé en comparant le nombre de cellules viables comme pour le pH.

### **8. Identification des isolats lactiques retenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF**

Les isolats de lactobacilles et de pediococques retenus après les tests d'activité antibactérienne et de survie aux conditions simulées du tractus gastro-intestinal ont été identifiés par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Cette étape a été réalisée au niveau de l'Institut Charles Violette (université de Lille, France)

Le protocole adopté a été comme suit :

**Préparation des isolats et de la matrice:** les isolats ont été cultivés sur gélose MRS pendant 48 h afin d'avoir des colonies bien isolées. Pour la préparation de la matrice, l'acide  $\alpha$ -cyano-4-hydroxy-cinnamique (HCCA) a été dissout dans une solution standard (50 % acétonitrile, 2,5 % acide trifluoroacétique [Sigma-Aldrich, Allemagne] et 47,5 % d'eau mili-Q) à une concentration finale de 10 mg HCCA/ml. La matrice a été préparée en aliquotes de 250  $\mu$ l et reste stable pendant une semaine maximum à température ambiante.

**Réalisation des dépôts :** la cible MALDI a bien été nettoyée avant la réalisation des dépôts. Ces derniers ont été réalisés en prélevant un fragment d'une colonie bien isolée qui a été déposé et étalé directement sur la cible MALDI sous forme d'un frottis fin et homogène à l'aide de cônes de micropipettes. Trois dépôts ont été réalisés pour chaque isolat et des dépôts de BTS (bacterial test standard, Bruker Daltonics, Allemagne) ont aussi été réalisés comme témoins et afin de bien équilibrer le spectromètre pour une identification fiable. Les dépôts ont ensuite été recouverts de 1  $\mu$ l d'acide formique (70 % [v/v], Sigma-Aldrich, Allemagne).

Après séchage des gouttes déposées, les dépôts ont été recouverts de 1 µl de la solution matrice HCCA et laissés pour séchage à température ambiante. Après séchage de la matrice, la cible a été prête pour être analysée.

**Analyse de la cible** : la cible a été analysée automatiquement par le spectromètre speed TM (Bruker Daltonics, Bremen, Allemagne) et les spectres obtenus ont été comparés à une base de données contenant plus de 5000 microorganismes à l'aide du logiciel Flex analysis 3.4 (Bruker Daltonics, Bremen, Allemagne). Les identifications ont ensuite été représentées avec des scores entre 0 et 3 et qui correspondent à la fiabilité de l'identification. La signification des scores est donnée dans le tableau V.

**Tableau V.** Signification des scores d'identification obtenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF

Scores	Interprétation
2,00 – 3,00	Identification hautement fiable
1,70 – 1,99	Identification peu fiable
0,00 – 1,69	Aucune identification possible

## 9. Propriétés de surface des souches de *pediocoques*

Les propriétés de surface des souches de *pediocoques* retenues ont été étudiées en déterminant les pourcentages d'hydrophobicité et d'auto-agrégation.

### 9.1. Test d'hydrophobicité

L'hydrophobie d'une bactérie est due en grande partie à la nature des composés présents à sa surface et utiles pour l'adhésion. L'hydrophobie/hydrophilie des cellules bactériennes est estimée sur la base de leur partition entre une phase aqueuse dans laquelle elles sont initialement mises en suspension et une phase apolaire. Cette méthode consiste à mettre en contact avec le solvant organique, une suspension bactérienne en milieu aqueux de densité optique (DO<sub>600nm</sub>) initiale connue. Après une agitation vigoureuse, des microgouttelettes de solvants se forment, sur lesquelles les bactéries s'adsorbent, plus au moins selon leurs propriétés de surface (Marin *et al.*, 1997).

Ce test a été réalisé suivant le protocole de Rosenberg *et al.* (1980) : des cultures de 18 h ont été préparées dans du bouillon MRS, centrifugées à 8000g/15 min à 4°C et le culot a été lavé deux fois avec du tampon PBS (20 mM, pH 7,2) puis remis en suspension dans le même tampon de façon à obtenir une charge de 10<sup>8</sup> UFC/ml (mesure de l'absorbance à 600

$nm = A_0$ ). Un volume de 1 ml de xylène (VWR, chemicals prolabo, France) a été ajouté à 3 ml de la suspension bactérienne qui a été mélangée au vortex pendant 90s et entreposée pendant 15 min afin de permettre la séparation des phases aqueuse et organique. Un volume de 1 ml de la phase aqueuse a été aspiré et l'absorbance a été mesurée à 600 nm (A). Le pourcentage d'hydrophobicité a été calculé selon l'équation :

$$\text{Hydrophobicité \%} = (1 - A/A_0) \times 100$$

Où  $A_0$  représente l'absorbance de la suspension avant mélange avec le solvant et A l'absorbance de la phase aqueuse après formation du système à deux phases.

## 9.2. Test d'auto-agrégation

Le test a été réalisé suivant le protocole de **Kos et al. (2003)** : une culture fraîche des souches a été réalisée à 37°C/18 h dans du bouillon MRS, centrifugée à 8000 g/15 min à 4°C, et le culot a été lavé deux fois avec du tampon PBS (20 mM, pH 7,2), remis en suspension dans le même tampon de façon à obtenir une charge de  $10^8$  UFC/ml. Les suspensions cellulaires (10 ml) ont été mélangées au vortex pendant 10s et l'absorbance a été mesurée à 600 nm ( $A_0$ ).

Le taux d'auto-agrégation a été déterminé après 2 h d'incubation à 37°C en prélevant 1 ml de la partie supérieure de la suspension et mesure de l'absorbance ( $A_t$ ) à 600 nm. Le pourcentage d'auto-agrégation est exprimé par l'équation :

$$\text{Auto-agrégation \%} = 1 - (A_t/A_0) \times 100$$

Où  $A_t$  représente l'absorbance au temps  $t = 2$  h et  $A_0$  l'absorbance à  $t = 0$ .

## 10. Pathogénicité des souches lactiques : Test d'hémolyse

Ce test consistait à cultiver en spots les souches lactiques (*Lactobacillus* ou *Pediococcus*) sur gélose TSA (Trypticase-Soja-Agar, Pronadisa, Conda SA, Espagne) supplémentée de 5 % (v/v) de sang. L'hydrolyse ou non des hématies avec ou sans dégradation de l'hémoglobine se manifestent par l'apparition de zones vertes ( $\alpha$ -hémolyse) ou claires ( $\beta$ -hémolyse) ou absence d'hémolyse ( $\gamma$ -hémolyse) (**Ghrai et al., 2008**).

## 11. Résistance aux antibiotiques des souches lactiques sélectionnées

Afin de vérifier l'influence des administrations non contrôlées des antibiotiques au niveau des élevages de poulet de chair, sources de nos isolats bactériens, des tests de résistance aux antibiotiques ont été effectués, en testant un antibiotique pour chaque famille, et en mettant l'accent sur les plus utilisés en Algérie. Les souches lactiques isolées et sélectionnées ont été testées.

A partir d'une culture fraîche de 18 h, une suspension bactérienne ( $10^8$  UFC/ml) dans l'eau physiologique a été préparée. Des boîtes contenant de la gélose MRS ont été ensemencées par écouvillonnage. Après séchage, des disques d'antibiotiques ont été déposés à la surface des boîtes. Après incubation des boîtes à  $37^\circ\text{C}/24\text{-}48$  h, la présence ou l'absence de zones d'inhibition autour des disques a été notée (Wang *et al.*, 2010).

## **12. Adhésion de la souche lactique sélectionnée sur les cellules intestinales**

La capacité de la souche sélectionnée à adhérer aux cellules intestinales de poulet a été étudiée en utilisant des cellules épithéliales, dérivées d'un segment intestinal de poulet, suivant la procédure d'Annika *et al.* (1983) légèrement modifiée. Brièvement, le segment de l'iléon de poulet a été ouvert et lavé avec du PBS (20 mM, pH 7,2) stérile puis maintenu dans ce tampon à  $4^\circ\text{C}$  pendant 1 h pour éliminer le mucus de surface et ensuite lavé trois fois avec du PBS. Les cellules intestinales ont été raclées avec une spatule stérile, et les raclures ont été mises en suspension dans du PBS. La suspension de cellules a été examinée, au microscope optique, afin de vérifier le détachement cellulaire et l'absence d'une contamination bactérienne. La concentration de cellules épithéliales a été d'environ  $10^6$  cellules/ml (comptage à la cellule de Malassez). Les suspensions cellulaires ont été ajoutées dans des boîtes de Petri d'une manière à couvrir complètement le fond de la boîte, laissées décantées à température ambiante pendant 30 min, puis la suspension a été aspirée. Un volume de 3 ml de la suspension bactérienne ( $10^5$  UFC/ml) a été ajouté à la surface des cellules épithéliales et incubé à  $37^\circ\text{C}$  pendant 2 h. Après incubation, la suspension bactérienne a été aspirée doucement, et les cellules épithéliales ont été lavées deux fois avec du PBS stérile pour éliminer les bactéries non adhérentes. L'adhérence a été déterminée, par dénombrement en masse dans une gélose MRS, après détachement mécanique des cellules bactériennes adhérentes dans un volume de 3 ml de PBS stérile.

## **13. Etude *in vivo* de l'effet probiotique de la souche lactique sélectionnée**

### **13. 1. Lieu et durée de l'étude**

Dans cette étude expérimentale, l'élevage du poulet de chair, a commencé le 08/11/2015 pour se terminer le 06/01/2016 (56 jours). Il a été effectué dans un local privé (Chemini, Béjaïa) conçu pour cette étude, dont les dimensions sont de l'ordre de 4 m de longueur, 3 m de largeur et 3 m de hauteur. Le bâtiment d'élevage est divisé en 3 lots, les poussins sont élevés dans une poussinière ayant des conditions d'ambiance identiques. La confection du lieu de l'étude et la conduite d'élevage sont réalisées suivant les recommandations d'un vétérinaire.

### 13. 2. Conditions d'élevage

Quinze jours avant l'arrivée des poussins, le local a été nettoyé et chaulé. Des fenêtres ont été quotidiennement ouvertes pour une bonne aération. Une température de 35°C (1<sup>ère</sup> semaine), 32°C (2<sup>ème</sup> semaine) et 30°C (3<sup>ème</sup> semaine) a été assurée par un chauffage à gaz et des ampoules électriques. Une diminution de 2°C chaque semaine a été par la suite maintenue pour que la température puisse être maintenue entre 20 et 24°C à la 6<sup>ème</sup> semaine. Une intensité lumineuse de 5 watt/m<sup>2</sup> a été fournie aux poussins 24 h/24 h. L'élevage a été mené au sol recouvert d'une litière en copeaux de bois de 15 cm d'épaisseur. Un épandage d'une fine couche de litière 2 fois par semaine a été réalisé. On peut compter 20 poussins par m<sup>2</sup> jusqu'à la 4<sup>ème</sup> semaine, de la 4<sup>ème</sup> à la 6<sup>ème</sup> semaine: 20 par 1,5 m<sup>2</sup> ensuite 10 par m<sup>2</sup>. Chaque lot a été muni d'une mangeoire et d'un abreuvoir. L'eau de source utilisée a été testée pour détecter la présence ou pas du chlore ou d'autres traces de détergent (eau de javel) en utilisant les comprimés Lovibond®. L'aliment utilisé a été de formulation locale (tableau VI, Chemini) auquel un anticoccidien « salinomycine » a été ajouté, ainsi l'aliment a préalablement été testé si l'anticoccidien n'agit pas sur la souche probiotique.

### 13. 3. Modèle animal

L'étude a été conduite sur 60 poussins d'un jour, mâles et femelles, de souche ISA 15. Les poussins ont été repartis d'une façon aléatoire dans trois lots, d'une manière à avoir 20 poussins/lot.

### 13. 4. Régime alimentaire

Les poussins ont reçu un régime de base « maïs-tourteau de soja » dont la composition varie en fonction du stade d'élevage (démarrage, croissance, finition). La composition et la forme de l'aliment utilisé est indiquée dans le tableau VI.

Etant donné que la transition alimentaire (alimentation de démarrage-croissance, croissance-finition) doit être progressive et au besoin accompagnée de la distribution d'un antistress, des suppléments en vitamines, en macro-oligoéléments et en acides aminés ont été apportés pour équilibrer les besoins des animaux.

**Tableau VI.** Composition et forme de l'aliment du poulet de chair selon l'âge

Composition	Démarrage 0-15 j	Croissance 16-45 j	Finition 45 j-abattage
Maïs (%)	61,16	65,47	67,06
Tourteaux de Soja (%)	34,8	30,9	29,6

Carbonate de calcium (%)	0,85	0,9	0,9
Phosphate bicalcique (%)	2,19	1,73	1,44
C mv (%)	1	1	1
Energie (kCal)	2829	2881	2930
Forme	Miettes	Granulés	Granulés

Trois lots ont été inclus dans cette étude :

- **Un lot témoin négatif (TEM)** : alimenté avec l'aliment (tableau VI) sans additifs.
- **Un lot témoin positif (ATB)** : alimenté avec le même régime alimentaire, des antibiotiques ont été utilisés à visée préventive ou curative tel que l'Érythromycine (EVAL2X, antistress), colistine (Doxystin, pour la prévention et le traitement des maladies respiratoires et de la colibacillose), des sulfamides (sulfaquinoxaline sodium/sulfaméthazine sodium/sulfadiazine sodium) et COCCIDIOPAN: un anticoccidien).
- **Un lot test (PRO)** : alimenté avec le même régime alimentaire mais l'eau de boisson a été supplémentée de la souche probiotique à tester ( $10^9$  UFC/ml).

### 13. 5. Programme de vaccination

En élevage de poulet de chair, seules deux maladies peuvent être traitées par vaccination ; la maladie de Newcastle et la maladie de Gumboro. Le tableau VII montre le calendrier de vaccination appliqué durant l'élevage.

**Tableau VII.** Programme de vaccination des poussins

Age (jour)	Maladie	Vaccin	Type	Méthode
7 <sup>ème</sup>	Newcastle	HB1	Vivant	Eau de boisson
14 <sup>ème</sup>	Gumboro	Winterfield 2512	Vivant	Eau de boisson
21 <sup>ème</sup>	Newcastle	La sota	Vivant	Eau de boisson

En cette période de vaccination, étant donné que le système immunitaire est affaibli sous l'effet du vaccin, les poussins ont été mis sous couverture d'antistress (vitamine « C » et l'érythromycine pour le lot antibiotique (ATB) ; et vitamine « C » seule pour les 2 autres lots : TEM et PRO).

### 13. 6. Administration de la souche probiotique

Une culture de 18 h de la souche probiotique dans du bouillon MRS à 37°C a été réalisée. La culture obtenue (environ  $10^9$  UFC/ml) a été centrifugée à 5000 g/10 min, le culot a été lavé deux fois avec du PBS (20 mM, pH 7,2) stérile puis remis en suspension dans de

l'eau de boisson additionnée de sucre (9 g/l). L'administration de la souche probiotique a été réalisée par gavage d'un millilitre, par voie orale, à l'aide d'une seringue stérile. Elle a été effectuée à partir du 3<sup>ème</sup> jour d'élevage, chaque jour à la même heure durant les 4 premières semaines (jusqu'au 31<sup>ème</sup> jour) sauf pendant les journées de vaccination.

### **13. 7. Paramètres étudiés**

Plusieurs paramètres ont été étudiés dans le but de confirmer l'efficacité de probiotique administré sur la croissance des poussins.

#### **13. 7. 1. Performances zootechniques**

##### **- Consommation alimentaire quotidienne**

Chaque jour, la quantité d'aliment consommée par les poussins a été déterminée comme suit :

$$\text{Quantité moyenne d'aliment} = \text{Quantité d'aliment consommée par jour} / \text{Nombre de sujets en vie.}$$

##### **- Suivi de la croissance (prise de poids)**

Afin de suivre la croissance des poussins, des pesées ont été effectuées sur 5 sujets par lot choisis d'une manière aléatoire. La première pesée a été effectuée à l'arrivée des poussins, la deuxième au 7<sup>ème</sup> jour et ensuite tous les 7 jours jusqu'à l'âge de 60 jour.

##### **- Gain de poids moyen quotidien**

Les gains de poids moyens quotidiens des poussins ont été calculés chaque semaine suivant les formules : Gain journalier = poids au jour  $J_{n+1}$  – poids au jour  $J_n$  (gain journalier) et Gain hebdomadaire =  $\sum$  gains journaliers / 8.

#### **13. 7. 2. Suivi de l'implantation de la souche probiotique**

Afin de suivre l'implantation et de contrôler la survie de la souche lactique dans le tube digestif de poulets, des prélèvements de fientes des poulets ont été effectués stérilement suivis de dénombrements des lactobacilles dans de la gélose MRS. Cinq échantillons ont été prélevés par lot au 2<sup>ème</sup> jour, 3<sup>ème</sup> jour, 7<sup>ème</sup> jour et ensuite toutes les semaines jusqu'à l'âge de 60 jour.

#### **13. 7. 3. Suivi de l'état de santé des poulets: effet antimicrobien de la souche probiotique**

Pour évaluer l'état de santé des poulets, la présence ou pas de symptômes respiratoires, de chute de poids et de maladies intestinales (selon l'aspect des fientes) a été observée tout au long de l'élevage. De plus, un dénombrement des entérobactéries a été

effectué respectivement dans les géloses VRBG (Vert Brillant, Rouge Neutre, Bile, Glucose ; Liofilchem, Italie) au 2<sup>ème</sup> jour et à la fin de chaque phase d'élevage (15<sup>ème</sup>, 45<sup>ème</sup> et 60 jour). Dans des cas extrêmes où les sujets décèdent, une autopsie (par le vétérinaire) a été réalisée pour un diagnostic exact des circonstances du décès.

#### **13. 7. 4. Rendement des carcasses**

A la fin de l'expérimentation, 3 poulets de chaque lot ont été pesés avant d'être sacrifiés. Une fois abattus, les carcasses ont été pesées après déplumage et après éviscération. Le poids des différents organes, mis d'habitude à la consommation humaine (foie, rate, cœur et gésier), a également été déterminé.

#### **13. 7. 5. Modifications morphologiques des segments intestinaux**

A la fin de l'élevage, trois poulets ont été sacrifiés (un par lot) et des coupes histologiques intestinales au niveau du duodénum, du jéjunum et du l'iléon ont été réalisées. Les segments intestinaux de poulet ont été ouverts et lavés avec de l'eau distillée stérile et fixés dans une solution de formaldéhyde à 15 % (v/v). Des lames histologiques ont été préparées à partir des échantillons au laboratoire privé d'anatomopathologie du Dr Seklab (Béjaia) et des observations microscopiques ont été effectuées.

#### **14. Analyse statistique**

Les résultats des différents tests ont été traités en vue du calcul de la moyenne et de l'écart-type puis soumis à une analyse de la variance à une seule variable « ANOVA » pour déterminer les différences significatives entre les résultats obtenus ( $P < 0,05$ ). Le test « *t* » de *student* a été utilisé pour comparer entre les moyennes, en utilisant le logiciel XLSTAT version 2009.

# **Chapitre II**

## **Résultats et discussion**

### 1. Recensement des élevages de poulet de chair (année 2012)

Au cours de cette enquête, les services agricoles de la subdivision d'Amizour (tableau VIII) nous ont permis d'avoir un aperçu général sur l'élevage de poulet de chair dans cette commune de la wilaya de Béjaia.

**Tableau VIII.** Recensement des poulaillers de poulet de chair (année 2012) (DSA, Subdivision d'Amizour)

Capacité totale instantanée	Nombre de bâtiments	Capacité/bâtiment
3000	01	3000
3700	01	3700
2560	01	2560
10000	02	5000
10000	02	5000
10000	02	5000
1000	01	1000
3700	01	3700
1500	01	1500
1000	01	1000
2000	01	2000
1500	01	1500
1000	01	1000
1500	01	1500
10000	02	5000
2000	01	2000
1000	01	1000

Les données présentées dans le tableau VIII concernent les 17 poulaillers d'élevage de poulet de chair déclarés au niveau de la direction des services agricoles de la subdivision d'Amizour. Cependant, il existe un nombre important de poulaillers qui ne sont pas déclarés au niveau de cette subdivision qui exercent leur activité sans être certifiés par la direction des services agricoles. Les données recensées montrent que la majorité des poulaillers contient un seul bâtiment d'élevage avec une capacité importante allant de 1000 à 3000 individus par

bâtiment; seuls quatre poulaillers renferment 10000 individus répartis sur deux bâtiments de 5000 individus chacun.

## **2. Résultats de l'enquête de terrain menée sur les conditions d'élevage du poulet de chair**

Le questionnaire confectionné est fondé sur plusieurs points essentiels concernant différents paramètres d'élevage de poulet de chair (annexe 1). L'enquête a été menée aussi bien à Béjaia qu'à Bouira.

### **2.1. Wilaya de Béjaia**

L'enquête a été réalisée au niveau de 10 poulaillers (P01-P10) de la commune d'Amizour. Elle nous a permis de rassembler plusieurs informations sur l'élevage de poulet de chair au niveau de cette région.

#### **2.1.1. Méthode d'élevage et type de bâtiment**

Les résultats obtenus ont montré que tous les poulaillers exercent une activité traditionnelle en termes d'élevage de poulet de chair. Tous les bâtiments se situent dans des régions éloignées des agglomérations, pour éviter le bruit qui est une source de stress, ce qui permet de diminuer l'incidence du stress sur l'apparition des maladies. En plus, ces bâtiments sont éclairés avec une lumière naturelle en ajoutant quelques fois une lumière artificielle durant la journée. L'aération de ces bâtiments est effectuée naturellement par la présence des fenêtres mais des extracteurs qui permettent de chasser l'air qui se trouve dans les bâtiments vers l'extérieur dans le but de le renouveler sont parfois installés.

La densité d'individus change d'un poulailler à un autre selon la surface du bâtiment et varie de 5 poulets/m<sup>2</sup> à 13 poulets/m<sup>2</sup>. Cette densité n'est pas fixe et diffère selon la phase d'élevage qui est (ANSEJ, 2010):

- Phase de démarrage (Poussins de 1 à 15 jours) : 30 à 20 poussins /m<sup>2</sup>.
- Phase de croissance (15 à 30 jours) : 20 à 15 poulets/m<sup>2</sup>.
- Phase de finition (30 à 45 jours) : 10 poulets/m<sup>2</sup>.

#### **2.1.2. Souche de poussin utilisée et son alimentation**

Les souches de poussins dominantes utilisées dans l'élevage sont : Isabrown 15 (ISA15), Arbor Acre, mais aussi on trouve la Coq50 et la Cob. La souche ISA15 donne de bons rendements en poids sur le terrain allant de 2 kg à 3,5 kg à la fin d'élevage.

L'alimentation a un impact important sur la croissance des poussins mais aussi intervient dans la prévention de diverses maladies si les conditions de fabrication et surtout les

conditions de stockage sont bien respectées. Cette alimentation doit être équilibrée et être en fonction de la phase d'élevage : aliment de démarrage, de croissance ou de finition (tableau IX).

**Tableau IX:** Les besoins alimentaires de poulet de chair selon les phases d'élevage (ANSEJ, 2010).

Matières	Démarrage 1-15 jours	Croissance 15-30 jours	Finition 30-45 jours
Energie (Kcal)	3 000	3 150	3 200
Protéines (%)	22,5	21,5	20
Lysine (%)	1,30	1,2	1,15
Méthionine (%)	0,75	0,70	0,65
Calcium (%)	1	0,95	0,90
Phosphore (%)	0,45	0,40	0,40
Matières grasses (%)	3-6	0,40	0,40
Cellulose (%)	4	5	6

Les résultats de l'enquête ont montré que les éleveurs respectent le type d'aliment pour chaque phase d'élevage. Cependant, parmi les paramètres les plus importants dans l'élevage c'est le contrôle microbiologique de l'eau et des aliments qui ne sont pas respectés par les éleveurs. En effet, nous avons constaté l'absence des analyses microbiologiques dans tous les poulaillers.

### 2.1.3. Hygiène

En ce qui concerne l'hygiène, le nettoyage des abreuvoirs et des mangeoires ne se fait pas dans certains poulaillers alors que d'autres respectent les règles d'hygiène en nettoyant les abreuvoirs chaque jour. Par contre, le nettoyage des mangeoires et le renouvellement de la litière sont rares.

Un autre facteur d'hygiène qui occupe une place importante dans l'élevage de poulet de chair est le vide sanitaire. Ce dernier doit être au minimum de 20 jours n'est pas toujours respecté par les éleveurs ce qui engendre des problèmes sanitaires au cours d'élevage d'une nouvelle bande.

### 2.1.4. Vaccination

Le programme de vaccination concerne les maladies virales : Newcastle et Gumboro. Pour la maladie de Newcastle, la vaccination est effectuée au 1<sup>er</sup> et au 7<sup>ème</sup> jour; alors que la vaccination contre la maladie de Gumboro est réalisée au 14<sup>ème</sup> jour.

Les résultats de l'enquête menée à la wilaya de Béjaia sont consignés dans les tableaux présentés en annexe 2.

## **2.2. Wilaya de Bouira**

Une autre enquête, avec le même modèle de questionnaire que celui utilisé pour les poulaillers de la Wilaya de Béjaia, a été réalisée sur sept sites d'élevages privés de poulets de chair au niveau de la wilaya de Bouira (P A-P G).

### **2.2.1. Méthode d'élevage et type de bâtiment**

Selon les résultats de l'enquête réalisée, il a été noté que la méthode d'élevage est traditionnelle dans tous les poulaillers, les bâtiments sont de type éclairé avec une lumière artificielle et menés d'une ventilation à extracteurs. Leurs structures varient d'un poulailler à un autre selon les capacités financières de l'éleveur. La température de démarrage des poulaillers ayant des poussins de 5 jours a été de 37°C et 18°C à la phase de croissance pour les poulaillers contenant des poulets de 30 jours. L'eau utilisée dans l'élevage est une eau de puits ou de source. Elle est distribuée aux poulets dans des abreuvoirs avec une fréquence de remplissage égale à 2 fois par jour. L'analyse microbiologique généralement ne s'effectue pas, à l'exception des poulaillers E et F.

### **2.2.2. Souche de poussin utilisée et son alimentation**

La souche de poussin la plus utilisée par les éleveurs de la région de Bouira est la Cob. Selon les éleveurs, cette tendance est liée à la disponibilité de cette souche sur le marché des poussins en Algérie avec le prix le plus bas par rapport à la souche ISA15 qui est plus performante en termes de croissance et de résistance aux maladies mais dont le prix est élevé. L'alimentation est spécifique pour chaque phase de développement : démarrage, croissance et finition, où l'aliment est distribué dans des mangeoires de 2 kg, sous forme de farine. Cependant, des suppléments sont ajoutés tels que les vitamines (B3) par les éleveurs des poulaillers B, C, D, E et F.

### **2.2.3. Hygiène**

Les poulaillers peuvent être un milieu favorable pour la multiplication de microorganismes pathogènes à cause de la température, l'humidité et d'autres facteurs liés à l'animal, c'est ainsi que les éleveurs procèdent au vide sanitaire des poulaillers qui dure de 10 jours à 20 jours avant de faire rentrer une nouvelle bande. Cependant, la durée du vide sanitaire n'est pas toujours respectée par les éleveurs.

### **2.2.4. Vaccination**

Le programme vaccinal appliqué dans les poulaillers A, B, C, D et G inclus des vaccins contre les principales maladies du poulet de chair, à savoir : la maladie de Newcastle à partir du 1<sup>er</sup> jour jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour par incorporation du HB1 dans l'eau, la maladie de Gomboro au 14<sup>ème</sup> jour puis un rappel pour la maladie de Newcastle au 31<sup>ème</sup> jour.

Cependant certains problèmes ont été relevés lors de la collecte des informations telles l'absence de fiches d'enregistrements pour avoir les statistiques et les informations exactes sur les quantités d'aliments consommés et les taux de mortalité enregistrés.

Les résultats de l'enquête menée dans les sept poulaillers de la wilaya de Bouira sont rassemblés dans les tableaux présentés en annexe 3.

### **3. Etude de certaines flores intestinales**

Lors de cette étude, on s'est intéressé à deux groupes bactériens : des bactéries bénéfiques (*Lactobacillus* et *Pediococcus*) et des bactéries pouvant être nuisibles au poulet de chair : *E. coli* ainsi que les levures. L'étude a consisté en un dénombrement des lactobacilles et des levures, une recherche d'*E. coli* et un isolement des pediocoques. Les lactobacilles font partie de la flore dominante et l'un des genres probiotiques les plus utilisés en alimentation animale, cependant, les pediocoques sont rarement utilisés comme probiotiques et peu d'études ont été faites sur ce genre dans le but d'évaluer son caractère probiotique. *E.coli* est l'une des bactéries à l'origine de plusieurs maladies chez le poulet de chair, dont la colibacillose et son isolement est important dans le cadre de l'étude de l'activité antibactérienne des souches isolées (*Lactobacillus* et *Pediococcus*) vis-à-vis des souches d'*E.coli* isolées.

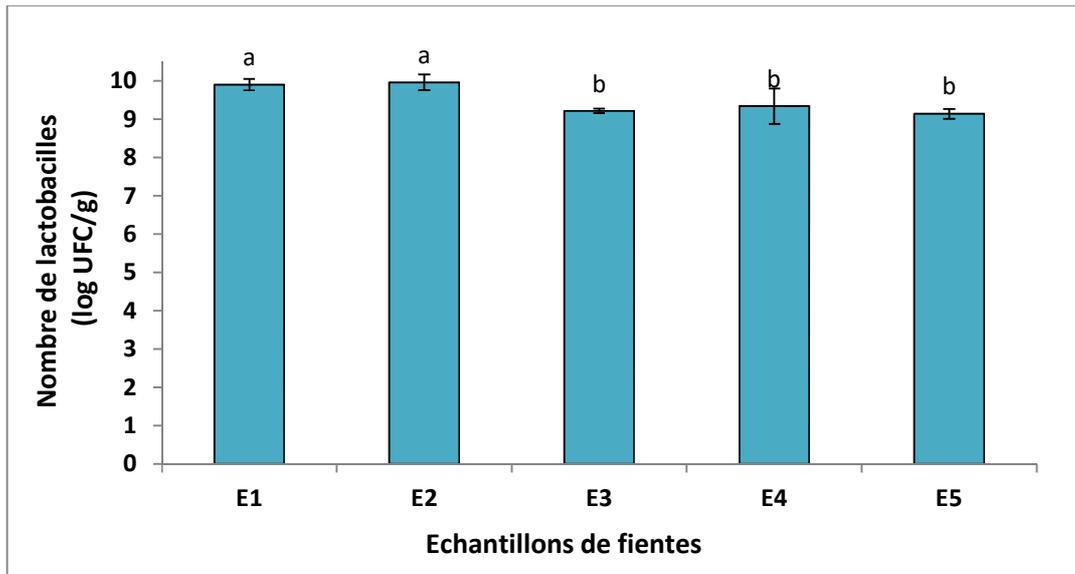
#### **3.1. Variation du taux de lactobacilles**

##### **3.1.1. En phase de démarrage**

Les résultats du dénombrement des lactobacilles, à partir des échantillons de fientes prélevés chez des poussins de 5 jours (poulailler 10 de Bejaia et poulaillers A, E et F de Bouira) sont présentés sur les figures 03 et 04.

Les résultats illustrés dans la figure 03 montrent que le nombre des lactobacilles a dépassé  $10^9$  UFC/g dans tous les échantillons de fientes des poussins de 5 jours (poulailler 10), avec les taux les plus élevés observés dans les échantillons E1 et E2 ( $\approx 10^{10}$  UFC/g); en moyenne le nombre a été de  $10^{9,5}$  UFC/g.

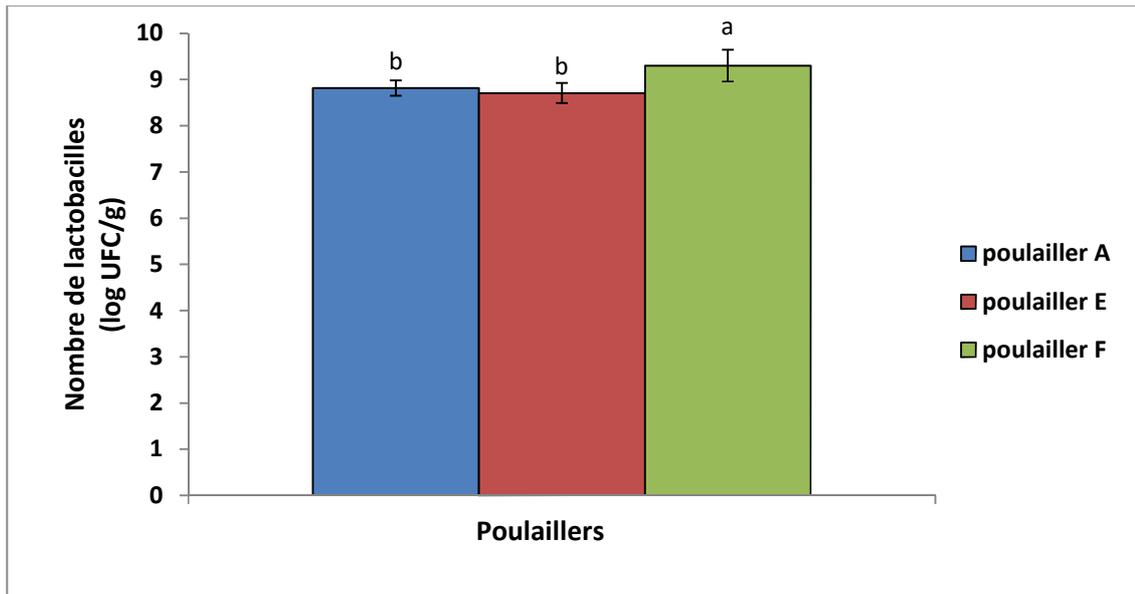
Aucune différence significative ( $P>0,05$ ) n'a été enregistrée entre les deux échantillons E1 et E2. Cependant, une différence significative ( $P<0,05$ ) a été observée entre ces deux échantillons et les trois autres (E3, E4 et E5). Ce dénombrement réalisé chez les poussins de 5 jours a été effectué dans le seul objectif d'avoir une idée sur le nombre de lactobacilles présents dans la flore intestinale des poussins de cette catégorie d'âge et non pas pour comparer entre les individus ou les poulaillers. C'est pour cette raison que nous nous sommes contentés d'inspecter un seul poulailler.



**Figure 03.** Résultats du dénombrement des lactobacilles dans des échantillons de fientes (E1-E5) de poussins en phase de démarrage (5 jours) prélevés dans un poulailler (N°10) de la wilaya de Bejaia. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P<0,05$ ) entre les échantillons.

En ce qui concerne le dénombrement des lactobacilles dans les fientes des poussins (5 jours) des poulaillers de Bouira, on a inclus 3 poulaillers afin de comparer entre eux.

Les résultats illustrés sur la figure 04 montrent que le nombre de lactobacilles dans ces trois poulaillers a dépassé  $10^8$  UFC/g. L'étude statistique a montré que le nombre de lactobacilles dans le poulailler F est significativement ( $P<0,05$ ) plus important que ceux notés dans les deux autres poulaillers A et E. Par contre, aucune différence significative ( $P>0,05$ ) n'a été enregistrée entre le poulailler A et le poulailler E.



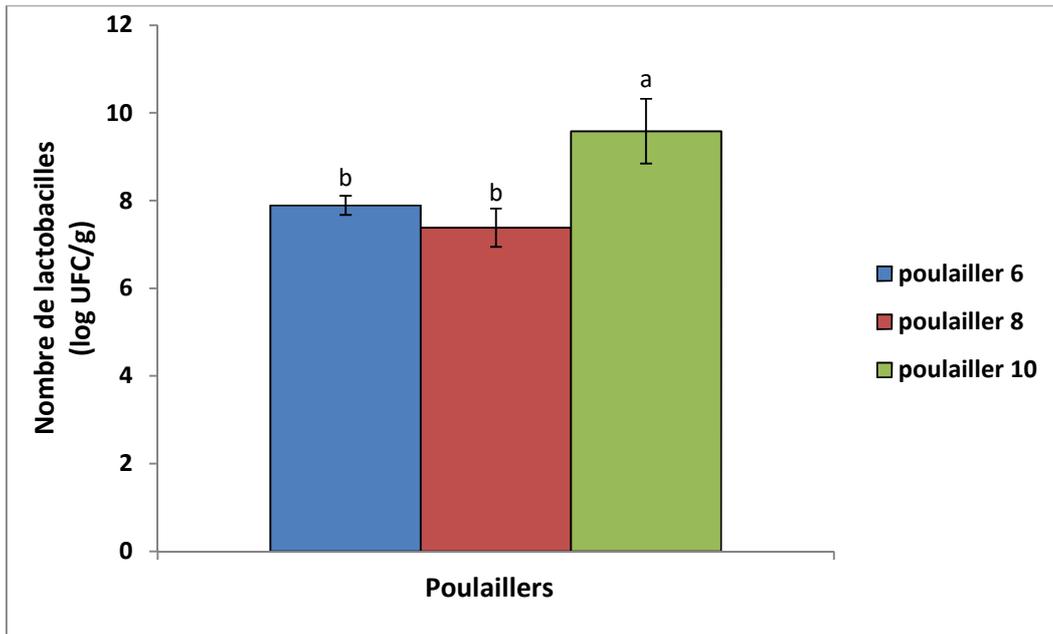
**Figure 04.** Résultats du dénombrement des lactobacilles chez des poussins en phase de démarrage (5 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Bouira. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les poulaillers.

Le dénombrement des lactobacilles en plus de la recherche de bactéries pathogènes ont été réalisés chez les poussins (5 jours) élevés dans trois poulaillers de la wilaya de Bouira pour estimer l'influence de la présence des lactobacilles sur la présence ou l'absence des bactéries pathogènes. En se référant aux résultats du questionnaire, réalisé au niveau des poulaillers de la wilaya de Bouira, le manque d'hygiène (absence de nettoyage régulier des mangeoires et des abreuvoirs) et le non respect de la durée du vide sanitaire pourraient être à l'origine de la présence de bactéries pathogènes. Mais, le taux important de lactobacilles ( $10^8$  UFC/g) enregistré chez les poussins élevés dans ces poulaillers pourrait intervenir dans la diminution de l'impact du manque d'hygiène constaté. Ceci pourrait réduire la fréquence de présence des bactéries pathogènes et aider les poussins à lutter contre elles, même si ce nombre reste insuffisant pour prévenir la mortalité chez les poussins (**Albazaz et Büyükünbal, 2014**).

### 3.1.2. En phase de croissance

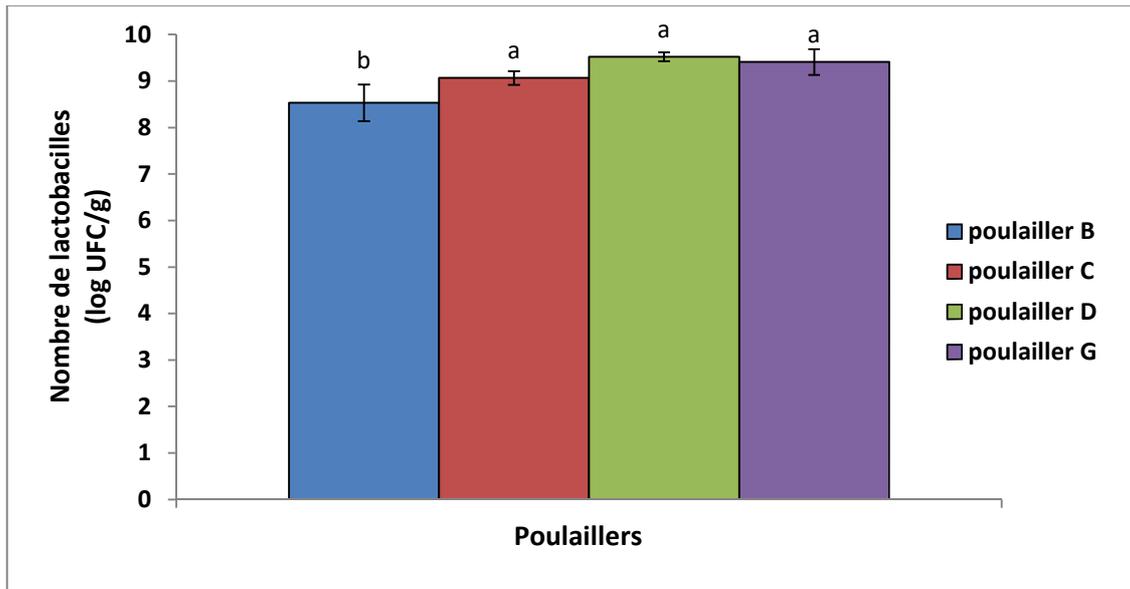
Le nombre de lactobacilles chez les poulets de 30 jours dans les 03 poulaillers (06, 08 et 10) de la wilaya de Béjaia a dépassé  $10^6$  UFC/g. Les échantillons de fientes prélevés du poulailler 10 ont montré le nombre le plus important ( $P < 0,05$ ) en lactobacilles qui a dépassé

$10^9$  UFC/g. Par contre, aucune différence significative ( $P>0,05$ ) n'a été notée entre les deux poulaillers 6 et 8 (Figure 05).



**Figure 05.** Résultats du dénombrement des lactobacilles chez des poulets en phase de croissance (30 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Béjaia. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P<0,05$ ) entre les poulaillers.

De même, durant la phase de croissance (30 jours), le dénombrement des lactobacilles a été effectué dans quatre poulaillers de la wilaya de Bouira (poulaillers B, C, D et G) avec dix échantillons pour chaque poulailler. A travers les résultats illustrés sur la figure 06 il apparaît que le nombre de lactobacilles a dépassé  $10^8$  UFC/g pour la majorité des poulaillers. Le nombre de lactobacilles chez les poulets du poulailler B a été significativement moins important ( $P<0,05$ ) que ceux enregistrés au niveau des trois autres poulaillers C, D et G. Cependant, aucune différence significative ( $P>0,05$ ) n'a été observée entre les trois poulaillers C, D et G.



**Figure 06.** Résultats du dénombrement des lactobacilles chez des poulets en phase de croissance (30 jours) au niveau de quatre poulaillers de la wilaya de Bouira. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les poulaillers.

Les résultats du dénombrement des lactobacilles ont montré que le nombre de lactobacilles se situe en moyenne entre  $10^8$  et  $10^9$  UFC/g, aussi bien en phase de démarrage que de croissance.

Par comparaison à la littérature, plusieurs études ont montré que les lactobacilles apparaissent et dominent le tube digestif des poulets dès le début de leur vie ( $10^8$ - $10^{10}$  UFC/g) en parallèle avec les entérobactéries et les entérocoques (**Jozefiak et al., 2004**). L'étude réalisée par **Amit-Romach et al. (2004)** indique que le taux des lactobacilles, dans toutes les parties du tube digestif de poussins de 4 jours, représente 25 % du taux des bactéries totales. Ce dernier atteint 40 % de la population bactérienne totale au 14<sup>ème</sup> jour.

Une autre étude menée par **Giannenas et al. (2010)** a rapporté un taux de  $10^6$  UFC/g de lactobacilles chez les poulets de 42 jours. Le même taux a été rapporté par **Zulkifli et al. (2009)**. La présence des lactobacilles est un bon signe d'équilibre de la flore intestinale. Ce dernier permet de lutter contre les microorganismes pathogènes induisant certaines pathologies à l'origine d'une mortalité accrue et d'une diminution du rendement (**Albazaz et Büyükunal Bal, 2014**).

Parmi les mécanismes par lesquels les bactéries lactiques exercent leurs effets sur l'équilibre de la flore intestinale, la compétition nutritionnelle est la plus évidente. Ainsi, l'inhibition de la croissance des agents pathogènes peut s'effectuer par un processus de

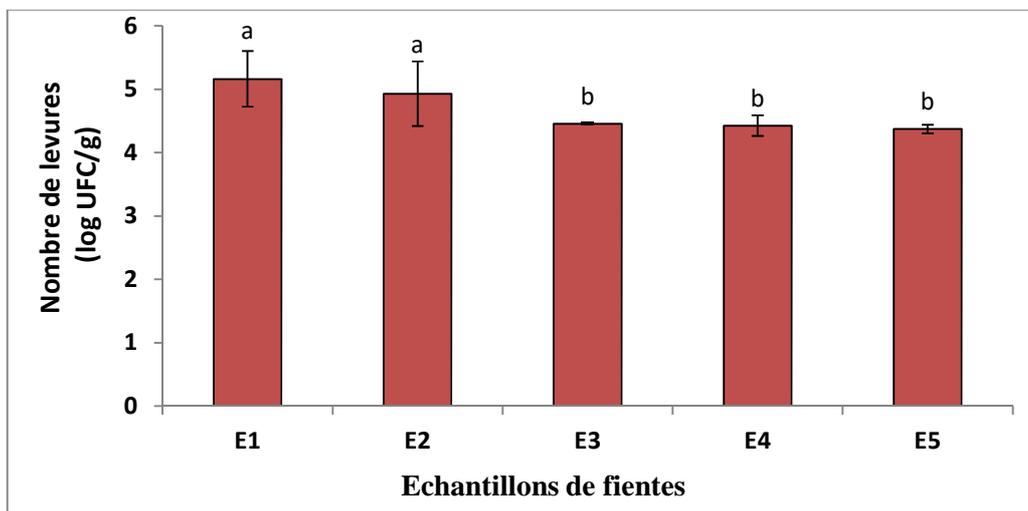
restriction des nutriments. Il est évident que la capacité des microorganismes à entrer en compétition pour limiter les nutriments disponibles est un facteur non négligeable (Fuller, 1991). Ce facteur détermine la composition du microbiote intestinal. Une augmentation du nombre de lactobacilles permettrait de diminuer les substrats disponibles pour l'implantation des agents pathogènes (Piquepaille, 2013).

### 3.2. Variation du taux de levures

#### 3.2.1. En phase de démarrage (5 jours)

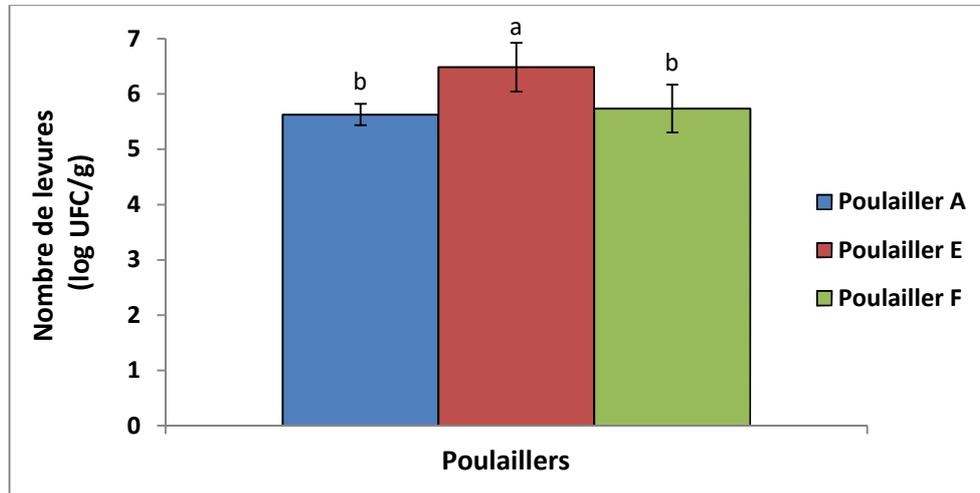
En parallèle au dénombrement des lactobacilles chez les poulets des différents poulaillers des deux wilayas, un dénombrement des levures a été réalisé pour estimer leur nombre dans la microflore intestinale. Les figures 07 et 08 illustrent les résultats obtenus chez les poussins de 5 jours des poulaillers de la wilaya de Bejaia et Bouira respectivement.

Après incubation à 37°C/72 h, les levures apparaissent sous forme de colonies blanches crémeuses lisses et de tailles différentes en surface et en profondeur du milieu OGA. Chez les poussins du poulailler 10 de la wilaya de Béjaia, le nombre de levures a dépassé 10<sup>4</sup> UFC/g dans la majorité des échantillons et atteint 10<sup>5</sup> UFC/g dans l'échantillon E1 (Figure 07). L'étude statistique a montré une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les échantillons E1 et E par rapport à E3-E5. Par contre, aucune différence ( $P > 0,05$ ) n'a été constatée entre ces trois derniers.



**Figure 07.** Résultats du dénombrement des levures dans des échantillons (E1-E5) de fientes de poussins en phase de démarrage (5 jours) prélevés dans un poulailler (N°10) de la wilaya de Bejaia. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les échantillons.

De même, les résultats du dénombrement des levures chez les poussins en phase de démarrage, élevés dans les poulaillers de la wilaya de Bouira, montrent que le poulailler E présente le nombre le plus élevé ( $P < 0,05$ ) dépassant  $10^6$  UFC/g. Par contre, les poulaillers A et F présentent les taux les plus faibles ( $10^5$  UFC/g en moyenne) (Figure 08).

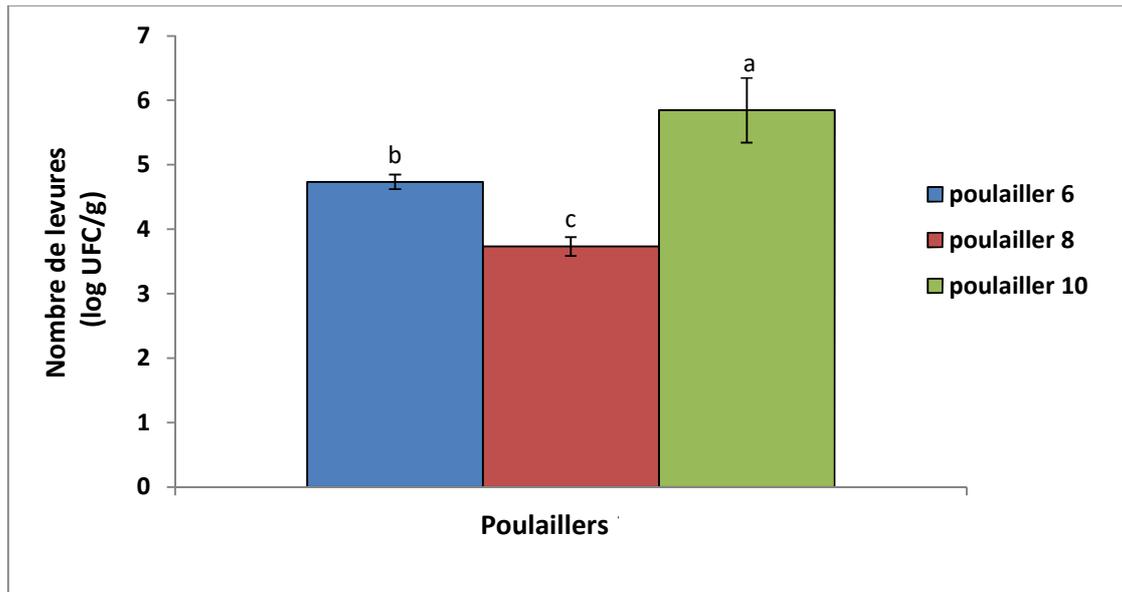


**Figure 08.** Résultats du dénombrement des levures chez des poussins en phase de démarrage (5 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Bouira. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les poulaillers.

Nous pouvons donc conclure que chez les poussins de 5 jours des poulaillers des deux wilayas, le nombre de levures varie entre  $10^4$  et  $10^6$  UFC/g.

### 3.2.2. En phase de croissance

Chez les poulets en phase de croissance des poulaillers de la wilaya de Béjaia, le nombre de levures a été compris entre  $10^3$  et  $10^6$  UFC/g avec le nombre le plus élevé observé ( $P < 0,05$ ) dans le poulailler 10 et les valeurs les plus faibles ( $P < 0,05$ ) ont été enregistrées dans le poulailler 8 (Figure 09). Les résultats de l'étude statistique montrent une différence significative entre les trois poulaillers ( $P < 0,05$ ).



**Figure 09.** Résultats du dénombrement des levures chez des poulets en phase de croissance (30 jours) au niveau de trois poulaillers de la wilaya de Béjaia. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les poulaillers.

Au niveau de la wilaya de Bouira, les résultats du dénombrement des levures chez les poulets en phase de croissance (30 jours) ont montré que leur nombre a été aux alentours de  $10^6$  UFC/g dans les quatre poulaillers (B, C, D et G). Aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) n'a pu être détectée.

Les levures font partie de la microflore intestinale naturelle du tube digestif du poulet de chair. Il est connu que ces microorganismes ne provoquent pas de pathologies chez l'hôte que dans le cas d'un stress induisant un déséquilibre de la flore intestinale (**Gabriel et al., 2005**).

**García-Hernández et al. (2012)** ont montré la présence de plusieurs espèces de levures appartenant à différents genres (*Trichosporon* sp., *Trichosporon asahii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Pichia kudriavzevii* et *Kodamaea ohmeri*) dans les fientes de poulet de chair.

**Rajkowska et Kunicka-Styczynska (2010)** ont sélectionné une souche de *Saccharomyces cerevisiae* à fort potentiel probiotique à partir des fientes de poulet de chair. Il a été rapporté que certaines souches de cette espèce jouent un rôle important en tant que probiotiques grâce à leurs mannanoligosaccharides pariétaux capables de réduire de 26 % le taux des salmonelles dans le tube digestif de poulet de chair (**Gaggia et al., 2010**).

### 3.3. Recherche d'*E. coli*

Une recherche d'*E. coli* dans les échantillons de fientes des poulets de 30 jours des poulaillers des wilayas de Béjaia (commune d'Amizour) et des poussins de 5 jours et des poulets de 30 jours des poulaillers de Bouira, a été réalisée sur milieu EMB. Toutes les colonies de couleur violet foncé ; bombées et faiblement confluentes, de 2 à 3 mm de diamètre, à centre noir étendu à plus des 3/4 du diamètre de la colonie et présentant un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchiée sont considérées comme résultats positifs de la présence d'*E. coli* (Delarras, 2014).

Les résultats indiquent la présence d'*E. coli* dans tous les échantillons de fientes prélevés au niveau des poulaillers de la wilaya de Béjaia et de Bouira. Ces résultats ne sont pas surprenants sachant qu'*E. coli* est une bactérie commensale du tube digestif de l'Homme et des animaux (Amit-Romach et al., 2004). Sa présence chez le poulet, et à tout âge, a été rapportée par Gabriel et al. (2008).

Dans notre étude, un nombre d'*E. coli* d'environ  $10^6$  UFC/g a été noté chez tous les individus. Le taux enregistré corrobore avec celui rapporté par Giannenas et al. (2010) qui avoisine  $10^7$  UFC/g. Ces résultats confirment le caractère commensal d'*E. coli* dans la flore naturelle intestinale du poulet de chair.

Cependant, un stress inhabituel ou un déséquilibre de la flore intestinale, suite à une antibiothérapie entre autres, peut rendre ces bactéries dominantes ce qui stimulerait l'expression de certains facteurs de virulence (Tutenel et al., 2003 ; La Ragione et al., 2005).

Certaines souches d'*E. coli* peuvent provoquer des infections secondaires chez les poussins suite à une autre infection respiratoire causée par les virus de la bronchite. Contrairement aux autres souches d'*E. coli* causant des maladies chez d'autres animaux, il n'y a pas de gènes de virulence spécifiques chez les souches d'*E. coli* provoquant des maladies aviaires (APEC : Aviaire pathogenic *E. coli*). Certaines souches d'APEC isolées de poulets possèdent des pili-S, pili-P, toxine CNF-1 (cytotoxic necrotizing factor 1), protéine Ibe ou la capsule K1 qui sont des facteurs de virulence en commun avec les souches d'*E. coli* pathogènes chez l'Homme. Cependant, ces facteurs sont retrouvés de façon sporadique chez les isolats aviaires (Oakley et al., 2014).

Un autre problème associé aux souches d'*E. coli* est leur résistance accrue à diverses familles d'antibiotiques. Ce phénomène est de plus en plus en augmentation avec le transfert des gènes de résistance entre les souches et les espèces de mêmes genres ou de genres différents (Sengeløv et al., 2003). Ce caractère est étudié dans une autre partie de cette étude en testant la résistance des souches d'*E. coli* isolées à divers antibiotiques.

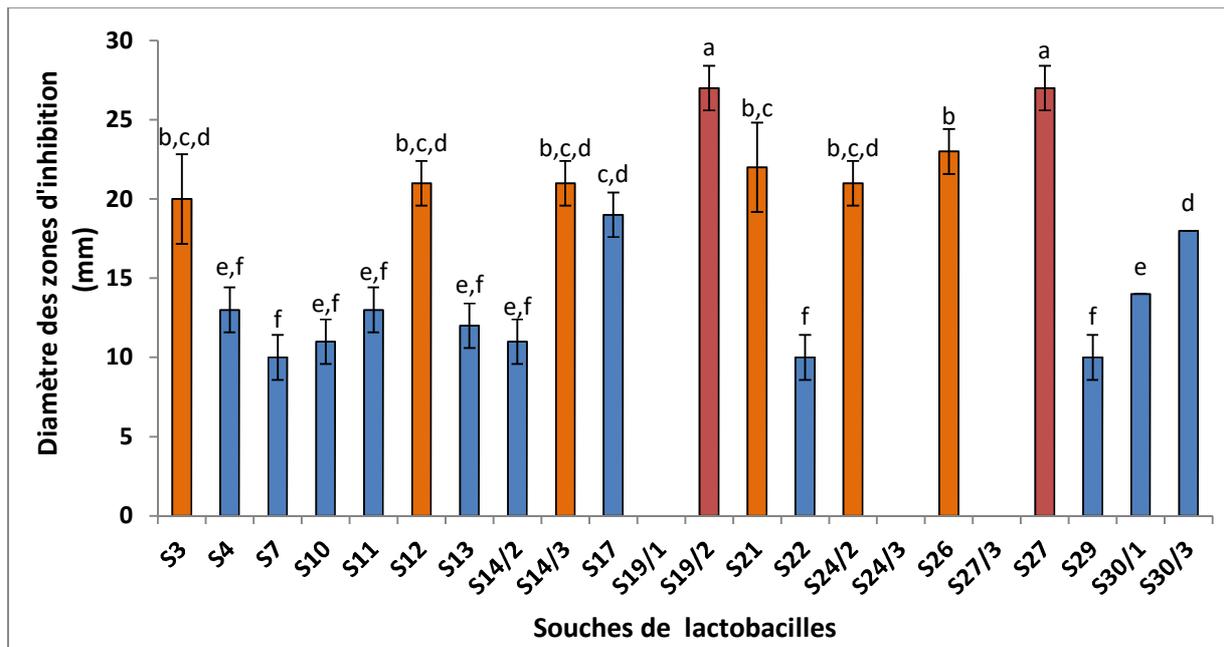
#### 4. Activité antibactérienne des isolats lactiques

L'étude de l'activité antibactérienne par le test de spots (contact direct cellules/cellules) des souches présumées être des lactobacilles (22 souches des poulaillers de Sidi Aich et 29 souches isolées des poulaillers d'Amizour) a été réalisée sur trois souches de référence à savoir : *E. coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* CIP 81-3 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. De même, cette activité a été testée contre *E. coli* SL-2016, isolée lors d'une colibacillose survenue lors de l'élevage (étude *in vivo*). D'autres souches lactiques présumées être des pediococques (19 souches) ont été testées sur les souches de références précédentes et sur des souches d'*E. coli* isolées de certains poulaillers.

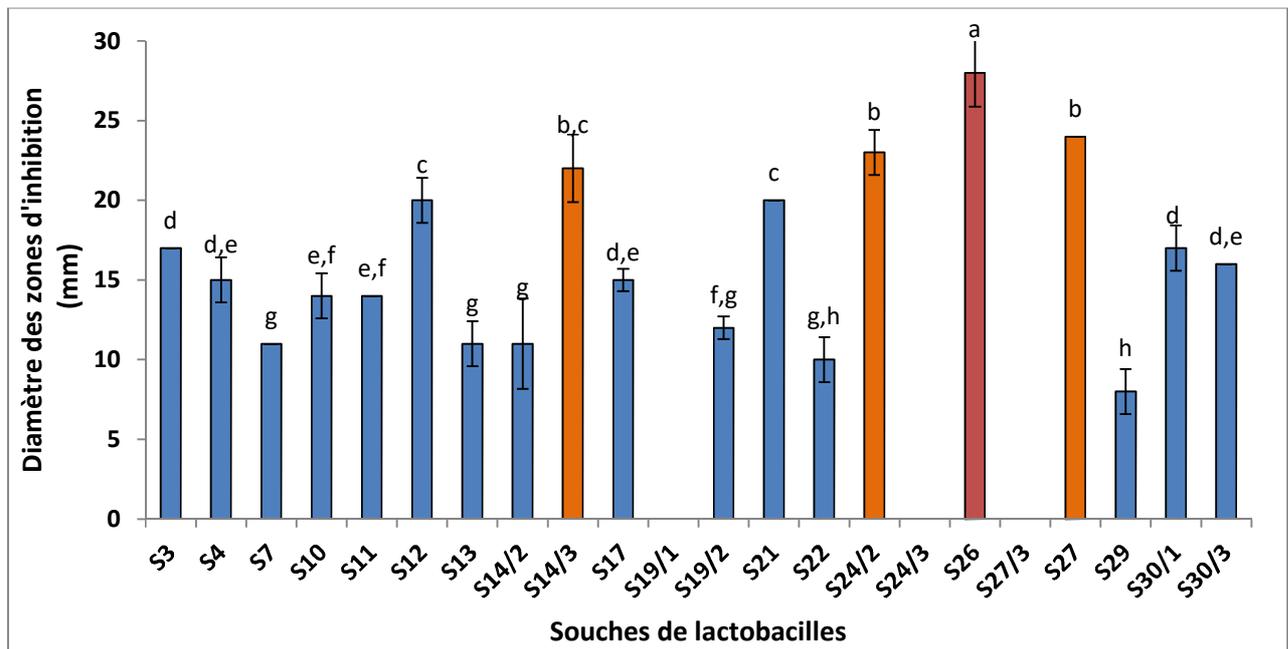
##### 4.1. Activité antibactérienne des isolats de *Lactobacillus*

Les 22 souches de *Lactobacillus*, isolées des poulaillers de Sidi Aich, ont montré une activité antibactérienne à l'égard d'*E. coli* ATCC25922 (Figure 10), *Salmonella enterica* CIP81-3 (Figure 11) et d'*E. coli* SL-2016 (Figure 12). Parmi elles, 19 ont montré un effet antagoniste à l'égard d'*E. coli* ATCC 25922 et de *Salmonella enterica* CIP81-3 et 20 ont montré un effet antagoniste à l'égard d'*E. coli* SL-2016. Les diamètres moyens des zones d'inhibition variaient de 10-27 mm, 08-28 mm et 11-28 mm à l'égard d'*E. coli*, *Salmonella enterica* et d'*E. coli* SL-2016 respectivement. L'activité antibactérienne a été classée en très forte, forte, moyenne ou faible en fonction du diamètre de la zone d'inhibition comme suit : Très forte ( $\varnothing \geq 20$  mm), forte ( $17 \text{ mm} \leq \varnothing < 20$  mm), moyenne ( $14 \text{ mm} \leq \varnothing < 17$  mm), faible ( $10 \text{ mm} \leq \varnothing < 14$  mm) et très faible ( $\varnothing < 10$  mm).

La meilleure activité antibactérienne à l'égard d'*E. coli* ATCC 25922 ( $P < 0,05$ ) a été enregistrée avec les souches S19/2 et S27 ( $\varnothing = 27$  mm). Toutefois, les souches S3, S12, S14/3, S21 et S26 ont également montré une très forte activité par rapport aux autres souches ( $\varnothing \geq 20$  mm). A l'égard de *Salmonella enterica* CIP81-3, la meilleure activité ( $P < 0,05$ ) a été enregistrée avec la souche S26 ( $\varnothing = 28$  mm). De même, les souches, S14/3, S24/2 et S27 ont présenté de très fortes activités antibactériennes ( $\varnothing > 20$  mm).

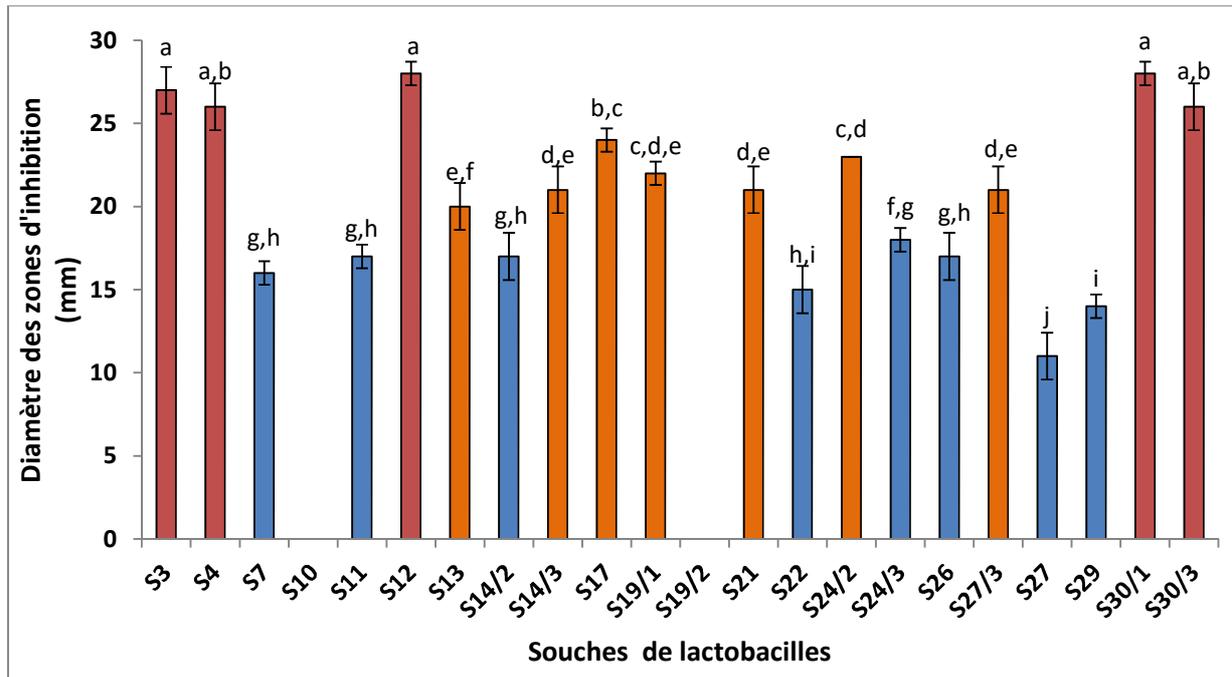


**Figure 10.** Activité antibactérienne des souches de *Lactobacillus* isolées de la région de Sidi Aich vis-à-vis de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.



**Figure 11.** Activité antibactérienne des souches de *Lactobacillus* isolées de la région de Sidi Aich vis-à-vis de la souche de référence *Salmonella enterica* CIP 81-3. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

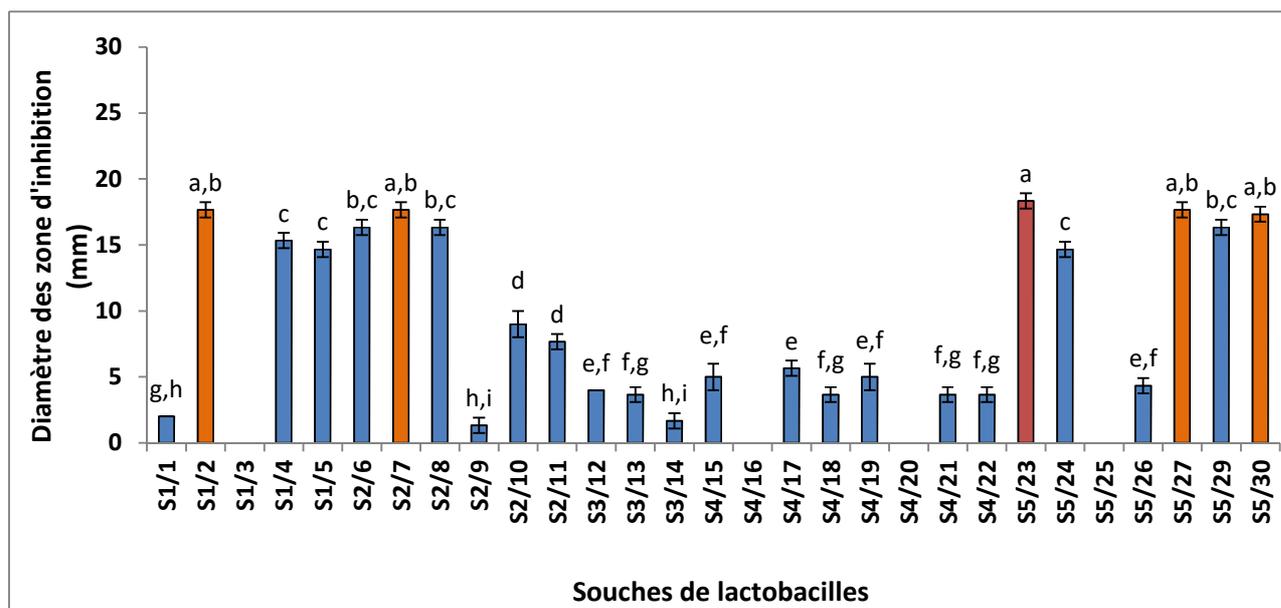
Par contre les souches S3, S12 et S30/1 ( $\varnothing=27-28$  mm) ont montré la meilleure activité ( $P<0,05$ ) à l'égard d'*E. coli* SL-2016 (Figure 12). De même, les souches S4 et S30/3 ( $\varnothing=26$  mm) ainsi que S13, S14/3, S17, S19/1, S21, S24/2 et S27/3 ( $\varnothing >20$  mm) ont montré de très fortes activités antibactériennes à l'égard de cette souche cible. Il est à noter que la souche S27/3 qui n'a montré aucune activité à l'égard de la souche de référence *E. coli* ATCC25922 a inhibé la souche *E. coli* SL-2016 nouvellement isolée des poussins atteints d'une colibacillose ( $\varnothing>20$  mm).



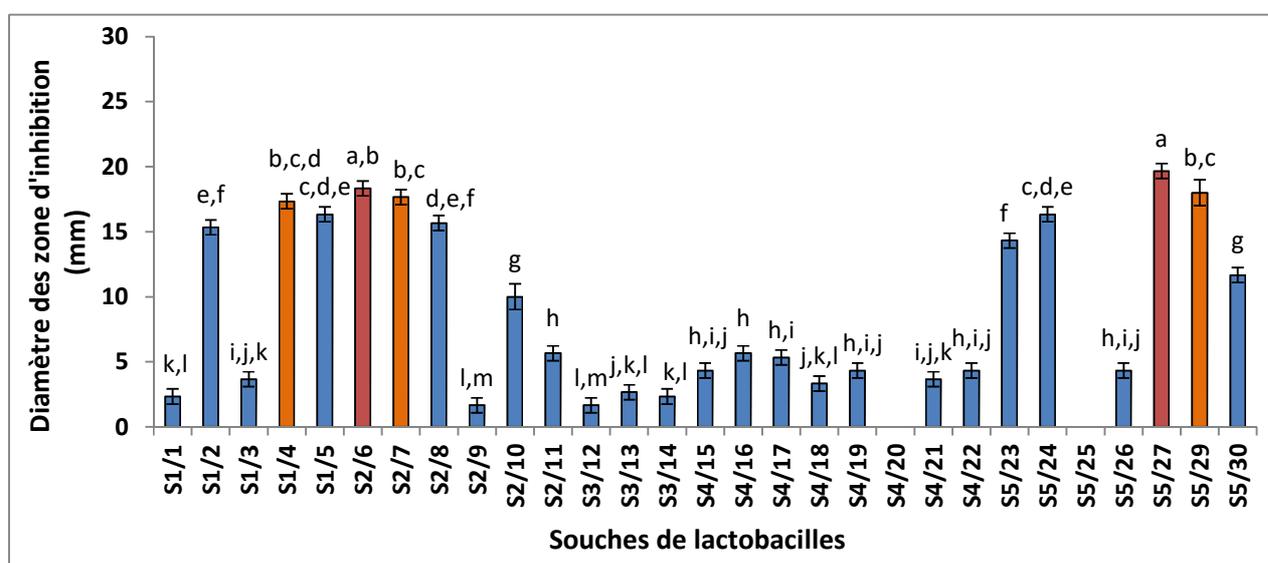
**Figure 12.** Activité antibactérienne des souches de *Lactobacillus* isolées de la région de Sidi Aich vis-à-vis de la souche *E. coli* SL-2016. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P<0,05$ ) entre les souches lactiques.

Concernant les souches de *Lactobacillus* isolées des poulaillers d'Amizour, la majorité d'entre elles présentent une activité antibactérienne contre les trois souches cibles utilisées. Les meilleures activités ont été observées contre *E. coli* (25/29 souches) et *Salmonella enterica* (27/29 souches) allant jusqu'à 18 mm de diamètre. La souche S5/30 a montré la meilleure activité anti- *E. coli* ATCC25922 ( $P<0,05$ ) avec un diamètre de zone d'inhibition de 18,33 mm. De même, les souches S1/2, S2/6, S2/7, S2/8, S5/27, S5/29 et S5/30 ont montré des activités antibactériennes moyennes ( $\varnothing \geq 16,00$  mm) contre cette souche (Figure 13).

La meilleure activité antibactérienne vis-à-vis de la souche de référence de *Salmonella enterica* a été révélée chez les souches S5/27 et S2/6 ( $\varnothing >19$  mm) suivies des souches S1/4, S2/7 et S5/29 avec des diamètres  $\geq 18$  mm (Figure 14).



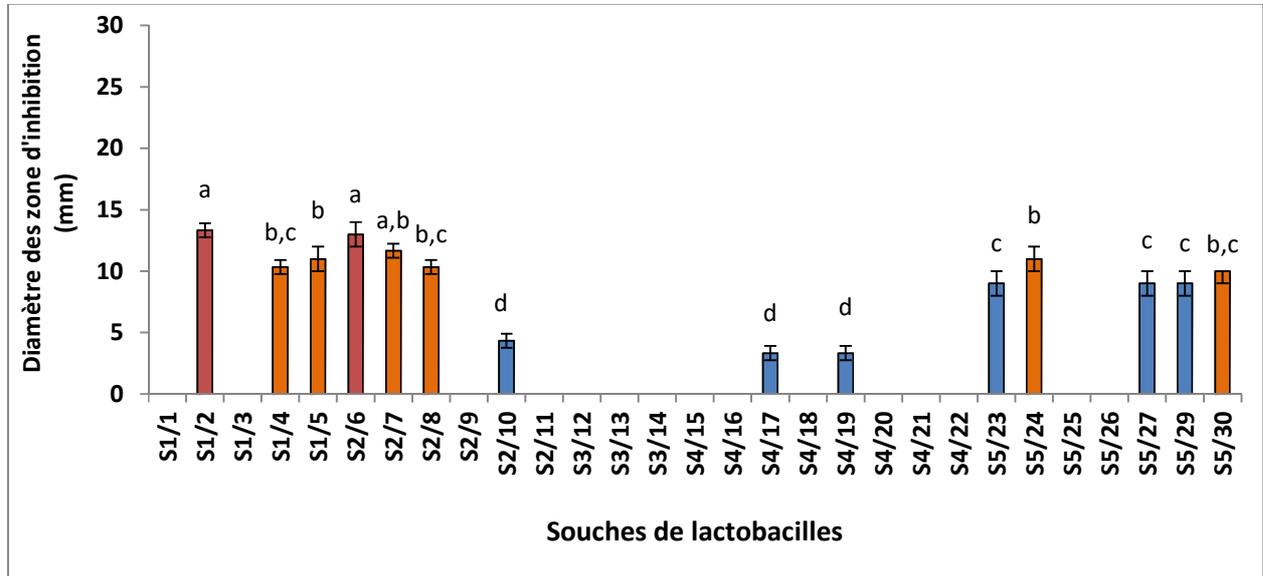
**Figure 13.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Lactobacillus* isolées de la commune d'Amizour vis-à-vis de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.



**Figure 14.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Lactobacillus* isolées de la commune d'Amizour vis-à-vis de la souche de référence *Salmonella enterica* CIP 81-3. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

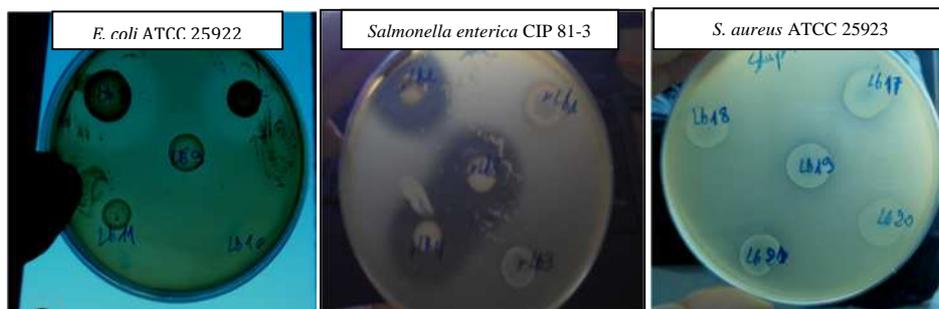
Les résultats du test de l'activité antibactérienne contre la souche de référence *S. aureus* (Figure 15) ont montré l'absence de toute activité chez certaines souches de

*Lactobacillus* (15/29 souches). Les meilleures zones d'inhibition ont été obtenues avec les souches S1/2 et S2/6 ( $\varnothing \geq 13$  mm). Toutefois, les souches S2/7, S1/4, S1/5, S2/8, S5/24 et S5/30 ont également montré une faible activité antibactérienne ( $\geq 10$  mm).



**Figure 15.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Lactobacillus* isolées de la commune d'Amizour vis-à-vis de la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches.

La figure 16 illustre des exemples de résultats de l'activité antibactérienne (test des spots) de certaines souches de *Lactobacillus* vis-à-vis des souches de référence.



**Figure 16.** Exemples de résultats d'activité antibactérienne (test des spots) de souches de *Lactobacillus* à l'égard des souches cibles (*E. coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* CIP 81-3 et *S. aureus* ATCC 25923).

Le poulet de chair est prédisposé à de nombreuses infections en particulier celles des systèmes gastro-intestinal et respiratoire. Malgré une amélioration importante des conditions d'hygiène et de salubrité dans le domaine de la production et de l'élevage de poulet, les infections entériques chez cette espèce persistent ce qui cause des pertes économiques importantes pour l'éleveur. Les poulets atteints de maladies gastro-intestinales manifestent un gain de poids de moins en moins important ainsi que des signes de faiblesse. Ceux sérieusement atteints peuvent mourir peu de temps après l'observation des premiers signes cliniques. L'administration quotidienne de faibles doses d'antibiotiques a permis d'obtenir une croissance accélérée et une consommation moindre d'aliments en modifiant la flore intestinale et la digestibilité des aliments. Cependant, avec le temps, leur administration répétée et parfois inappropriée chez l'Homme comme chez l'animal a contribué à l'augmentation de la résistance des agents pathogènes vis-à-vis des antibiotiques. Pour remédier à ce problème d'antibiorésistance, les chercheurs ont développé certains moyens alternatifs. Les recherches ont été dirigées vers l'utilisation des probiotiques dans divers domaines, notamment en élevage de poulet de chair (**Ben Abdallah, 2010**).

**Reque et al. (2000)** ont étudié plusieurs souches de *Lactobacillus*, isolées de différentes parties du tube digestif de poulet de chair, quant à leurs activités antibactériennes contre certaines souches pathogènes appartenant à : *E. coli*, *S. aureus* et *Salmonella* Typhimurium. Leurs résultats montrent une bonne activité contre *E. coli* et *Salmonella* Typhimurium avec des diamètres de zones d'inhibition de 23 et 21 mm respectivement (**Reque et al., 2000**).

**Kizerwelter-Swida et Binek (2005)** ont isolé plusieurs souches de *Lactobacillus* à partir des fientes et de l'intestin de poulets de chair. Les souches isolées présentaient des zones d'inhibition avec des diamètres allant de 5 à 15 mm contre *Salmonella* Enteritidis.

Plusieurs souches de *Lactobacillus*, isolées du tube digestif de poulet de chair, ont montré une activité antibactérienne contre *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* et *S. aureus* (diamètre  $\leq$  15 mm) (**Lin et al., 2007**). De même, des souches de *Lactobacillus*, isolées par **Ben Salah et al. (2012)** de différents segments du tube digestif de poulets de chair, ont montré une bonne activité antibactérienne (12-35 mm de diamètre) à l'égard de certaines souches pathogènes (*Listeria ivanovii*, *Salmonella enterica*, *S. aureus* et *E. coli*). La souche *Lb. plantarum* TN8 a présenté la meilleure activité antibactérienne avec des diamètres de 30 à 35 mm (**Ben Salah et al., 2012**).

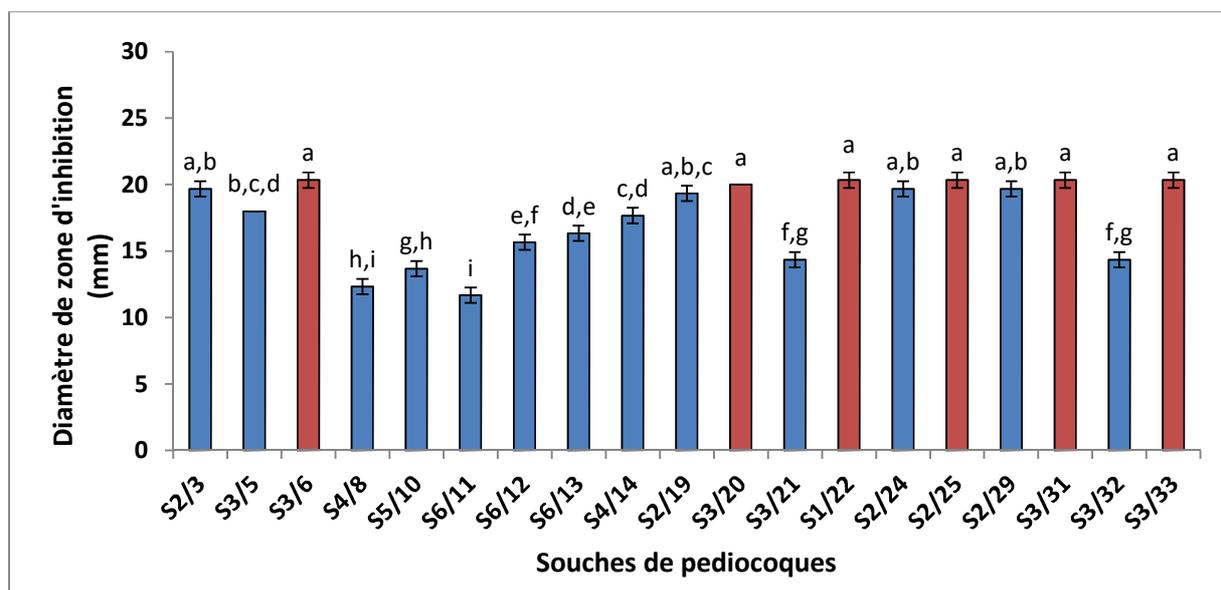
L'effet antagoniste de *Lactobacillus* pourrait être dû à plusieurs mécanismes tels que la production de substances antimicrobiennes (acides organiques ou des bactériocines), la compétition nutritionnelle,...etc. (Lin et al., 2007).

#### 4.2. Activité antibactérienne des isolats de *Pediococcus*

A côté des souches de *Lactobacillus*, les souches présumées appartenir à *Pediococcus* (isolées de la région d'Amizour) ont été testées pour leur activité antibactérienne vis-à-vis de quatre souches de références : *E. coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* CIP 81-3, *S. aureus* ATCC 25923 et *L. innocua* CIP 74915.

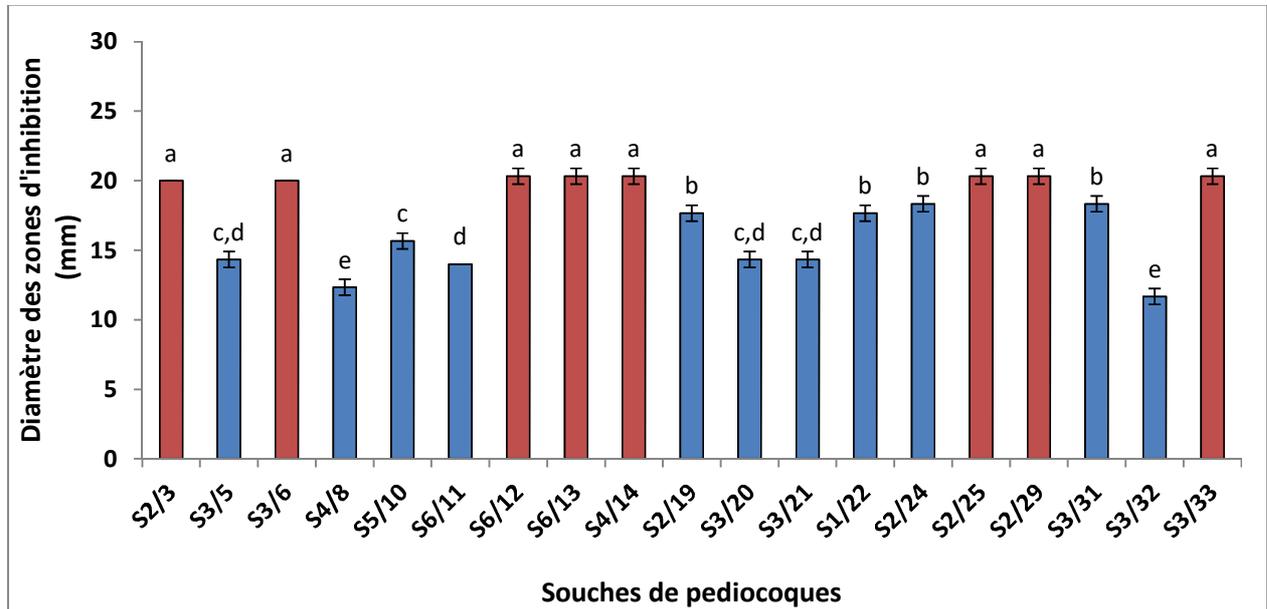
Les 19 souches de *Pediococcus* exprimaient une activité antibactérienne vis-à-vis des quatre souches cibles avec des diamètres allant de 8 à 23 mm. Les meilleurs résultats ont été obtenus contre *E. coli*, *Salmonella enterica* et *L. innocua* pour toutes les souches de *Pediococcus* (14- 23 mm de diamètre) et les faibles valeurs ont été obtenus contre *S. aureus* (8 à 13 mm de diamètre).

L'activité antibactérienne la plus importante (20 à 20,33 mm) contre *E. coli* a été obtenue avec les souches S3/6, S3/20, S1/22, S2/25, S3/31 et S3/33 (Figure 17).



**Figure 17.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence *E. coli* ATCC 25922. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

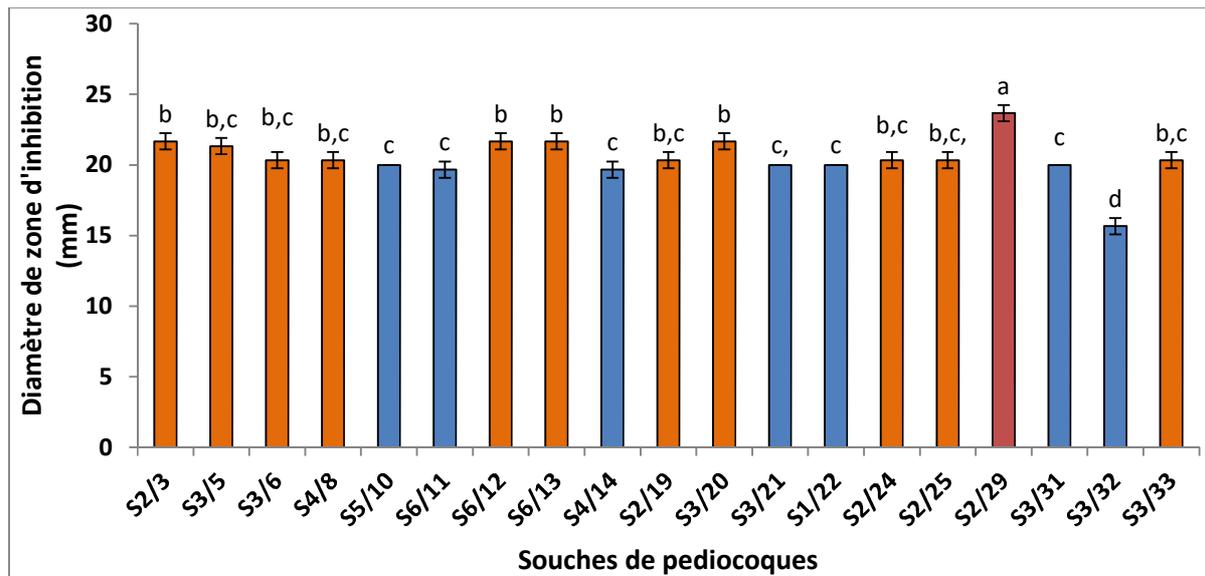
De même, les souches S2/3, S3/6, S6/12, S6/13, S4/14, S2/25, S2/29 et S3/33 ont montré la meilleure ( $P<0,05$ ) activité antagoniste (20 à 20,33 mm) contre *Salmonella enterica*.



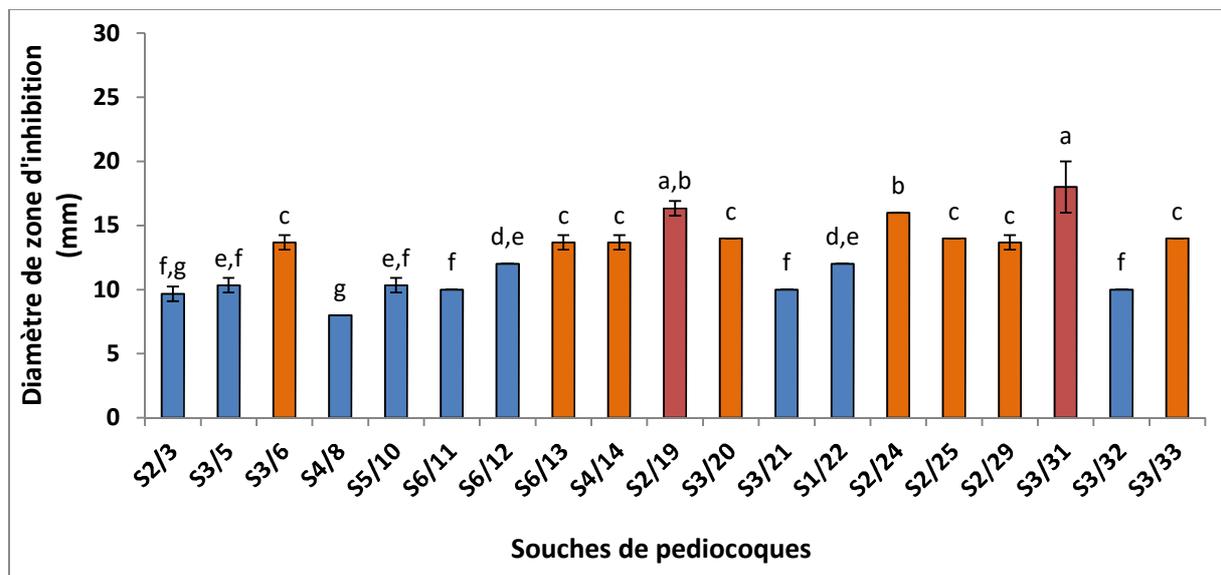
**Figure 18.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence *Salmonella enterica* CIP 81-3. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P<0,05$ ) entre les souches lactiques.

La meilleure ( $P<0,05$ ) activité antibactérienne (23,66 mm) vis-à-vis de *L. innocua* (Figure 19) a été notée avec la souche S2/29. Les souches S2/3, S3/5, S3/6, S4/8, S6/12, S6/13, S2/19, S3/20, S2/24, S2/25 et S3/33 ont également montré de très fortes activités anti-*L. innocua* ( $\text{Ø} \geq 21,33$ ).

A l'instar des lactobacilles, les plus faibles activités antibactériennes ont été enregistrées contre la souche de *S. aureus* avec des diamètres allant de 8 à 15 mm pour la majorité des souches. La souche S3/31 a montré la meilleure activité antibactérienne ( $P<0,05$ ) contre cette souche avec un diamètre de 18 mm suivie de S2/19 avec un diamètre de 16 mm (Figure 20).



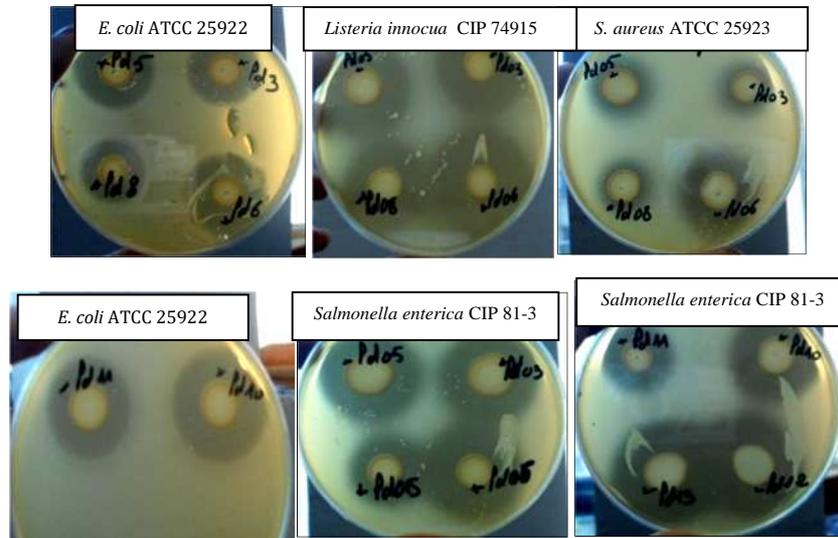
**Figure 19.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence *Listeria innocua* CIP 74915. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.



**Figure 20.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées de la commune d'Amizour contre la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

Des exemples de résultats d'activité antibactérienne de souches de *Pediococcus* à l'égard des souches cibles (*E. coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* CIP 81-3,

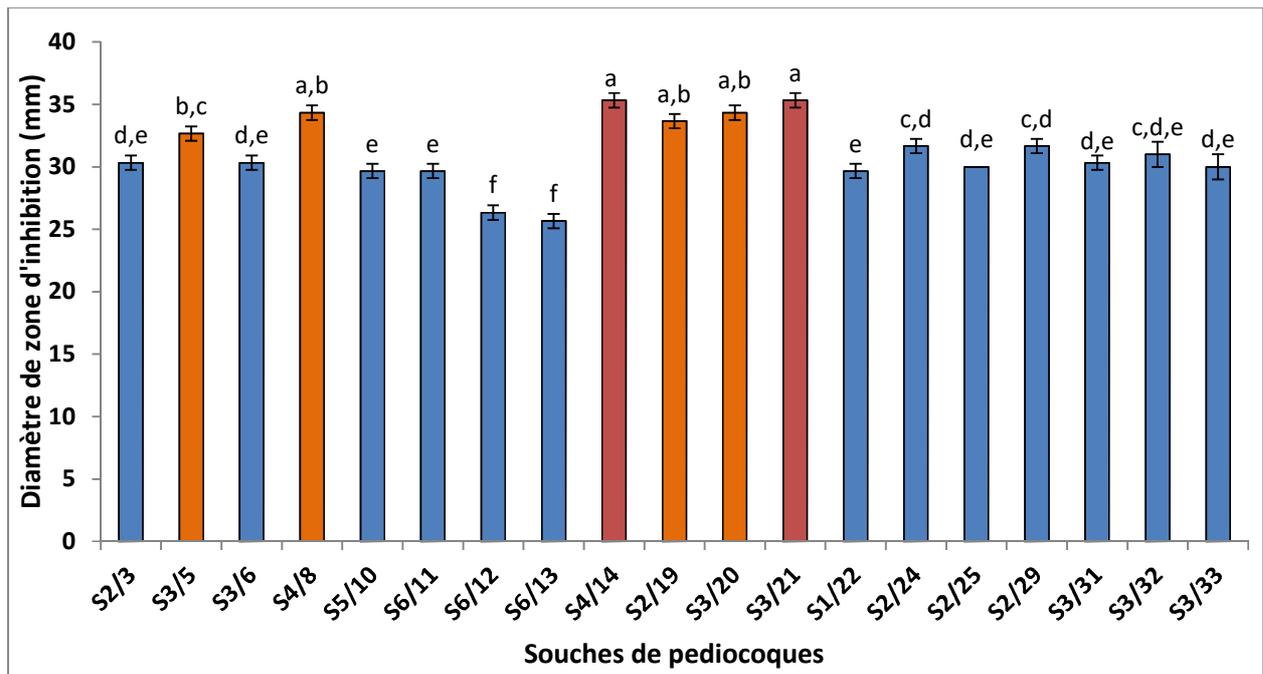
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Listeria innocua* CIP 74915) sont illustrés sur la figure 21.



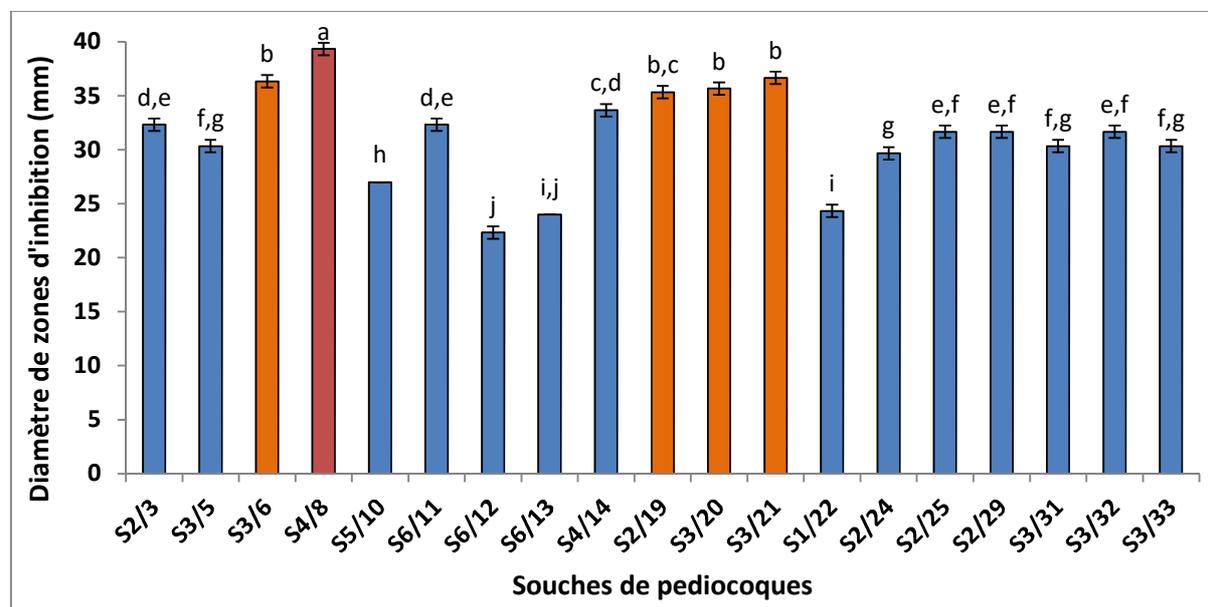
**Figure 21.** Exemples de résultats d'activité antibactérienne (test des spots) de souches de *Pediococcus* à l'égard des souches cibles (*E. coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* CIP 81-3, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Listeria innocua* CIP 74915).

Les bons résultats de l'activité antibactérienne obtenus avec les souches de *Pediococcus* à l'égard de la souche de référence *E. coli* ATCC 25929 nous ont incité à évaluer cette activité vis-à-vis de dix souches d'*E. coli* isolées de différents poulaillers de la région d'Amizour (wilaya de Bejaia). Les résultats obtenus ont montré une bonne activité vis-à-vis de ces souches d'*E. coli* avec des zones d'inhibition allant de 22 à 39 mm de diamètres.

Des différences significatives ( $P < 0,05$ ) ont été notées entre les souches de *Pediococcus* contre les souches d'*E. coli*. Les souches S4/14 et S3/21 ont montré la meilleure activité antibactérienne à l'égard de la souche EC11 (Figure 22). De même, S4/8 a montré la meilleure activité ( $P < 0,05$ ) à l'égard de la souche EC24 (Figure 23). Il est à noter que les souches S3/5, S4/8, S2/19 et S3/20 ont également montré de fortes activités anti-EC11 et S3/6, S2/19, S3/20 et S3/21 à l'égard de EC24.

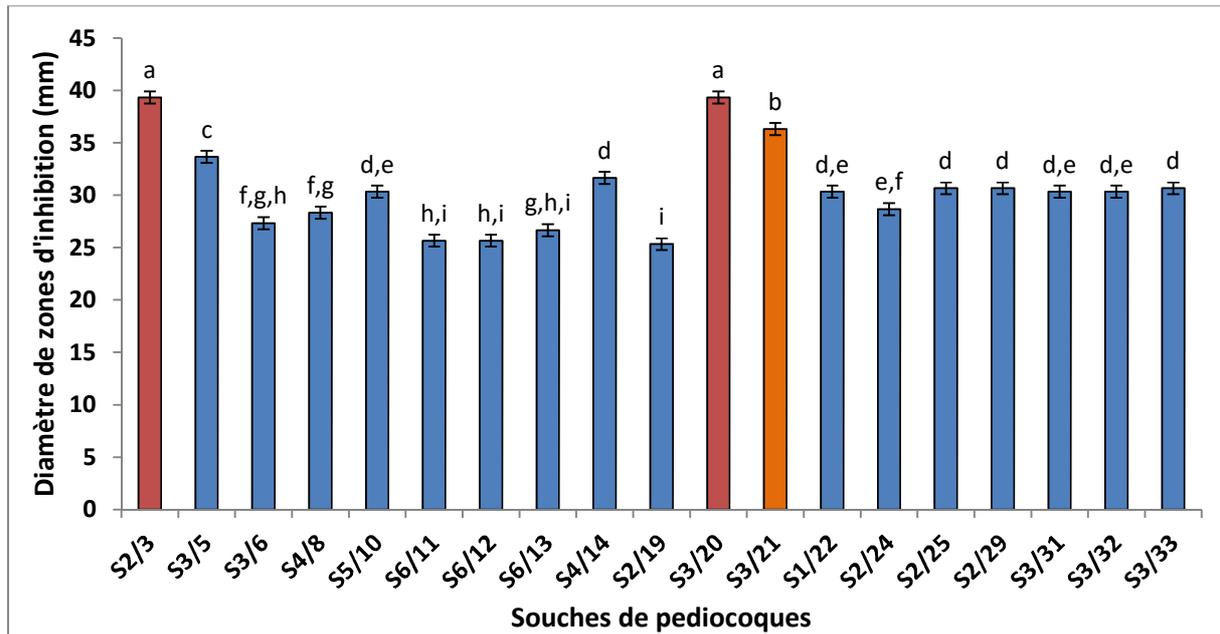


**Figure 22.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC11, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

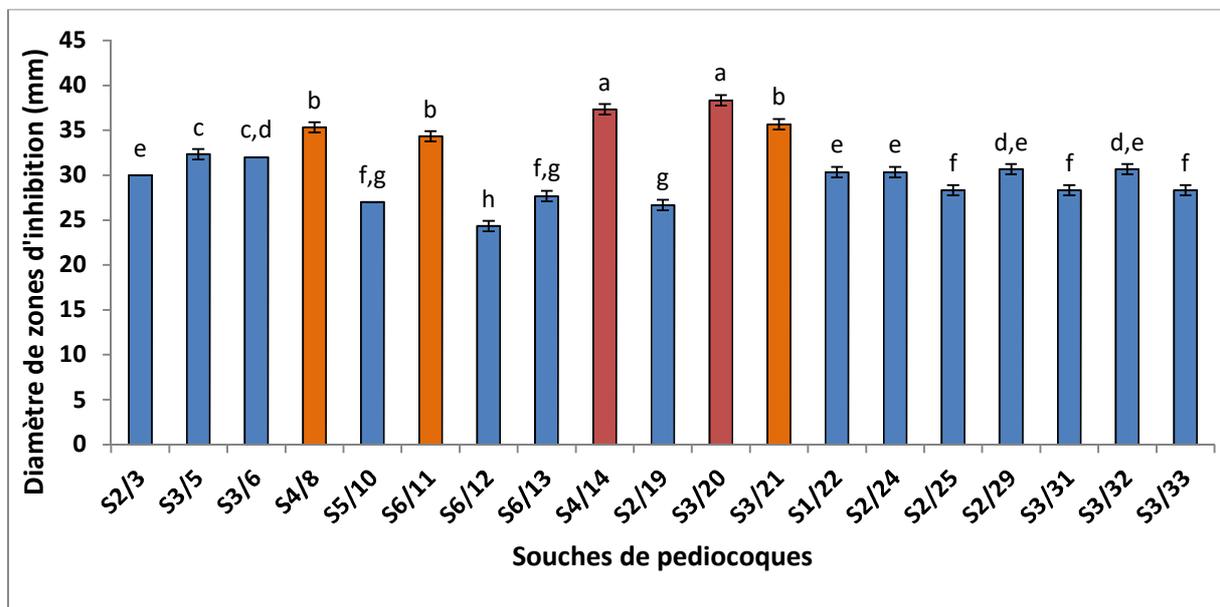


**Figure 23.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC24, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

De même, les deux souches S2/3 et S3/20 ont montré la meilleure activité ( $P<0,05$ ) contre EC31 et les deux souches S4/14, S3/20 contre EC41 (Figures 24 et 25).

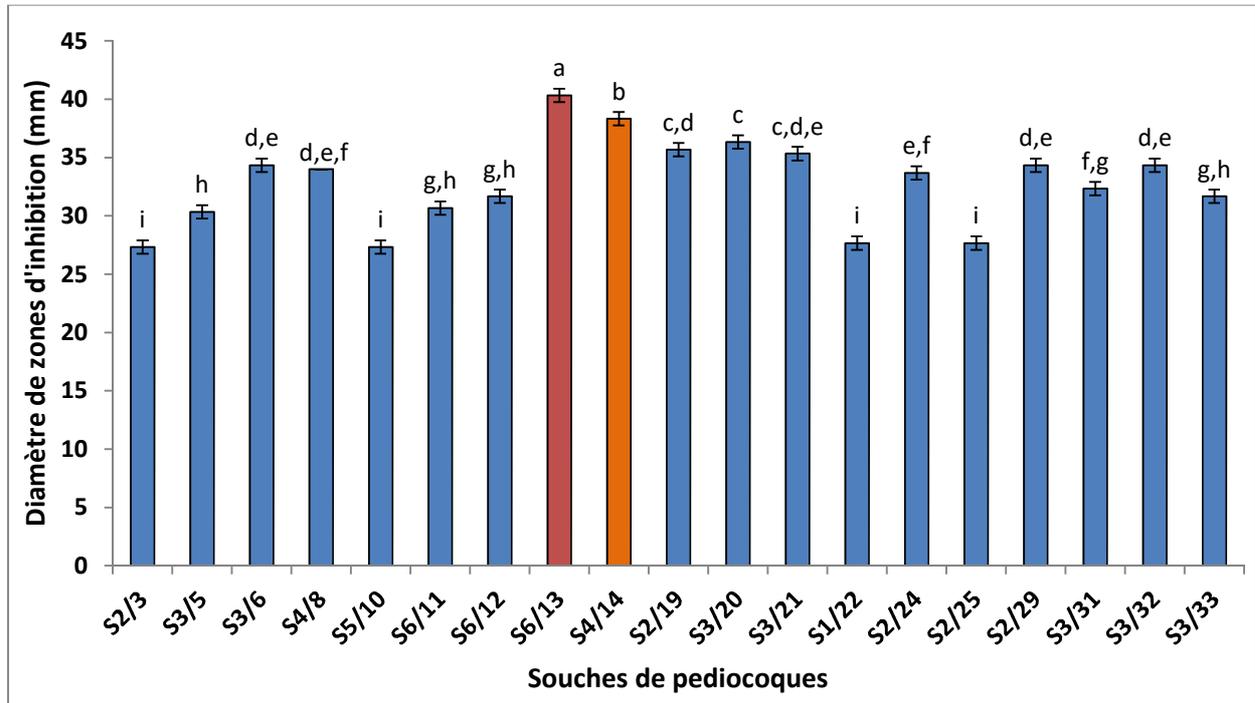


**Figure 24.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC31, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P<0,05$ ) entre les souches lactiques.



**Figure 25.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC41, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P<0,05$ ) entre les souches lactiques.

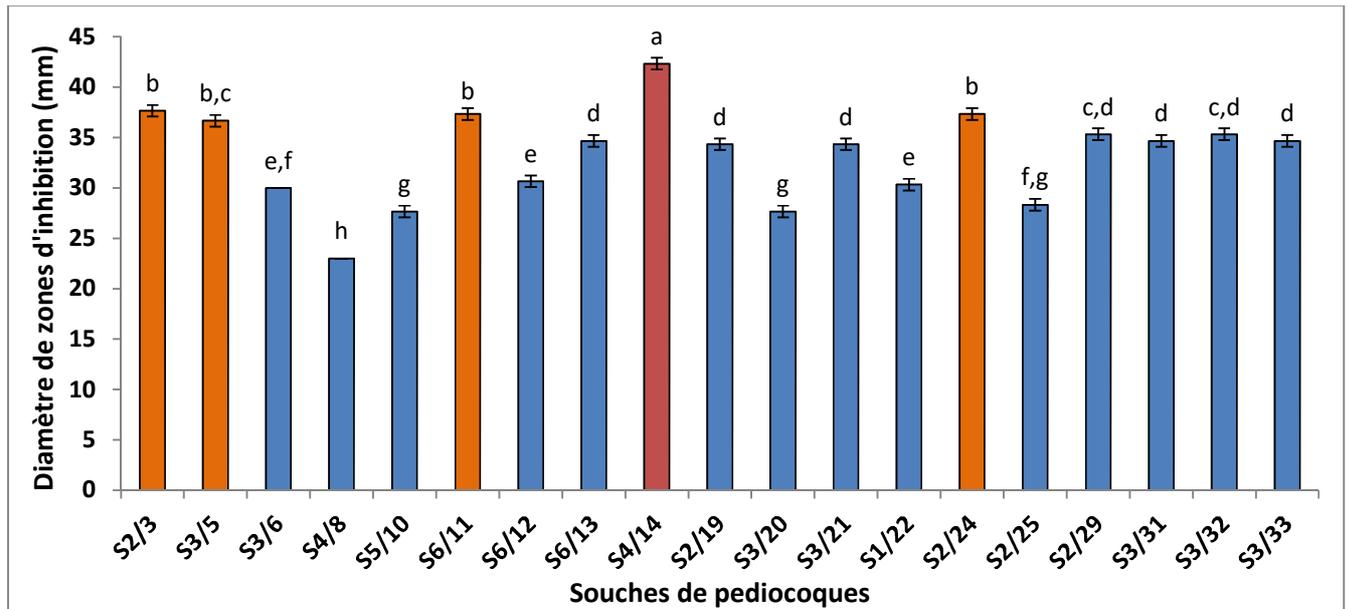
La souche S6/13 a montré une différence hautement significative par rapport aux autres souches contre la souche EC42 ( $P < 0,05$ ) avec un diamètre de zone d'inhibition  $> 40$  mm. Toutefois toutes les autres souches ont montré de très fortes activités ( $\varnothing > 25$  mm).



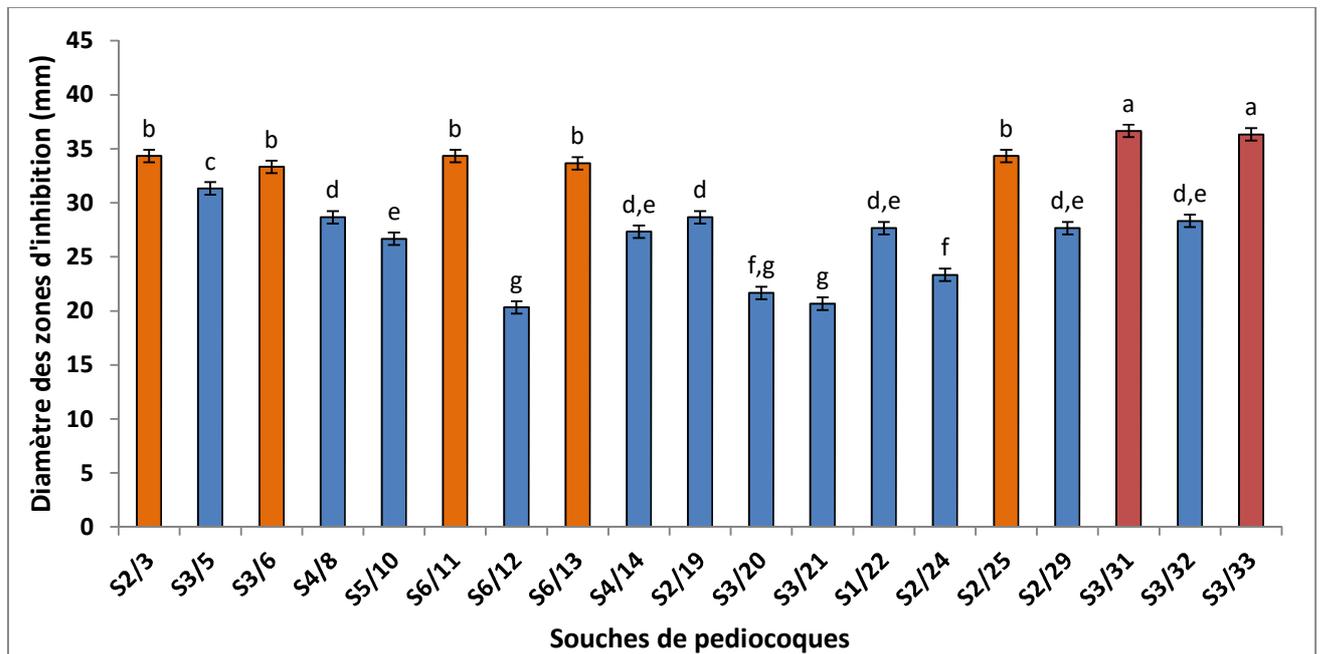
**Figure 26.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC42, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

La souche S4/14 a montré une différence hautement significative dans l'activité antibactérienne contre EC43 ( $P < 0,05$ ) par rapport aux autres souches lactiques (Figure 27). Cependant, les souches S2/3, S3/5 et S2/24 sont aussi efficaces ( $\varnothing \geq 35$  mm).

Concernant la souche EC50, la meilleure activité ( $P < 0,05$ ) a été notée avec les souches S3/31 et S3/33 (Figure 28). De même, les souches S2/3, S3/6, S6/11, S6/13 et S2/25 ont montré de fortes activités antibactériennes ( $\varnothing \geq 33$  mm).

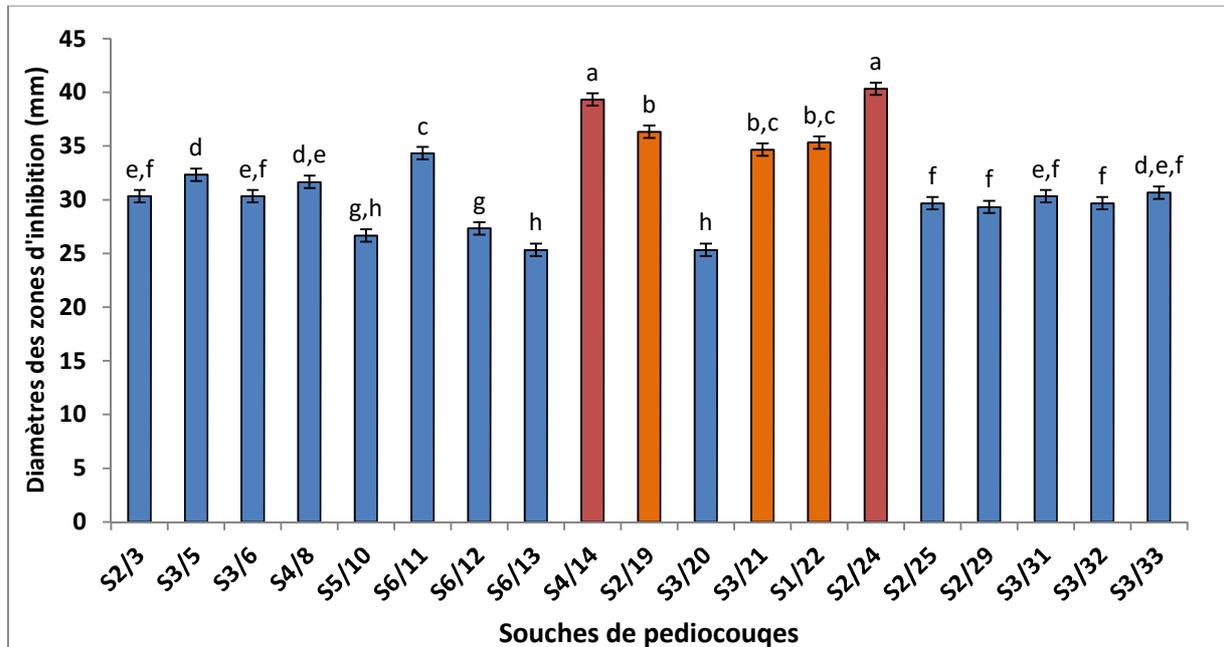


**Figure 27.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC43, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.



**Figure 28.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC50, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

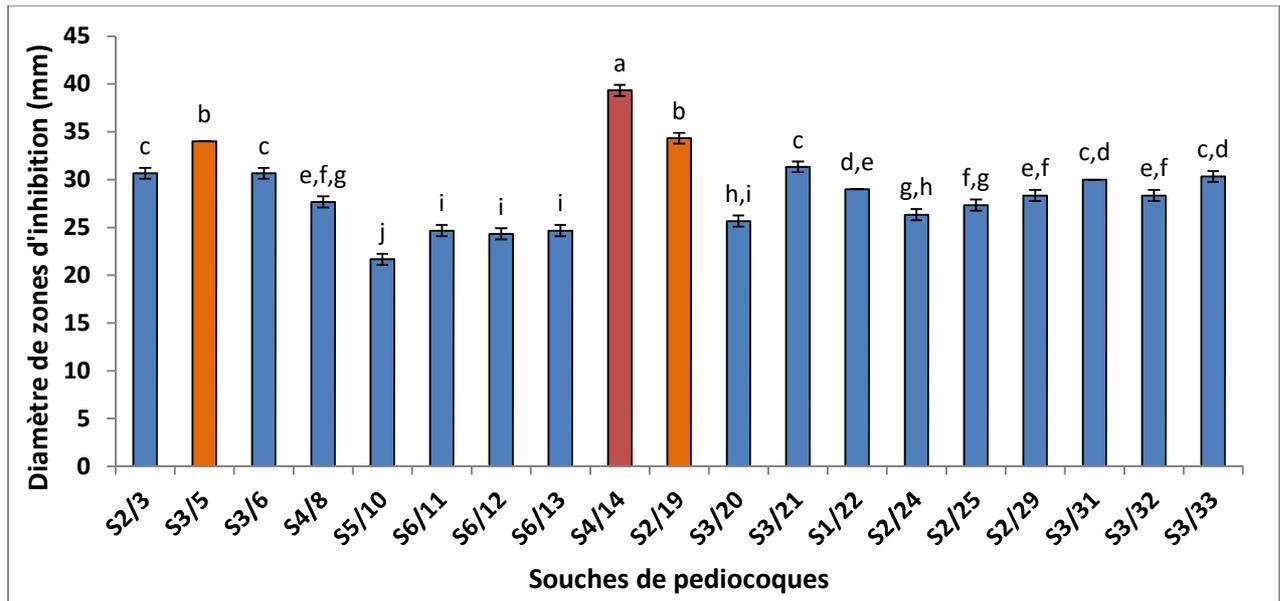
Quant à la souche EC52, la meilleure activité ( $P < 0,05$ ) a été enregistrée avec les souches S4/14 et S2/24 avec des diamètres  $\geq 40$  mm (Figure 29). Toutefois, la plupart des souches de *Pediococcus* ont montré de très fortes activités à l'égard de cette souche ( $\varnothing \geq 25$  mm).



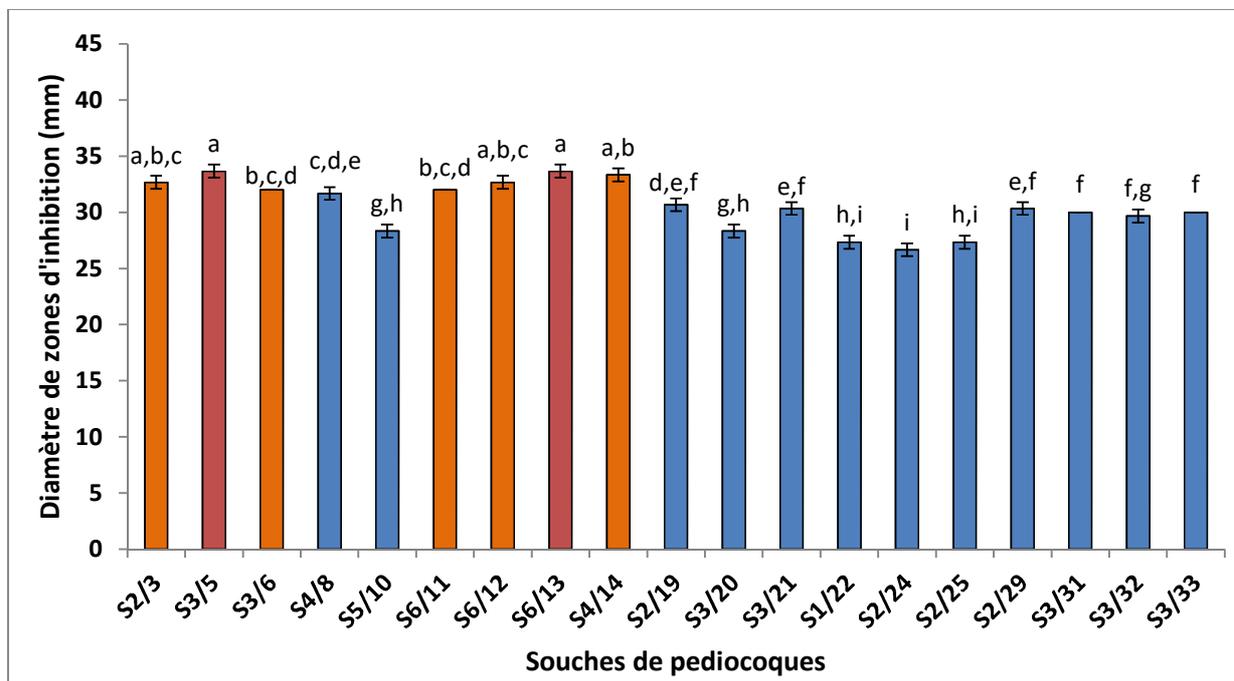
**Figure 29.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC52, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

De même, pour les souches EC54 et EC55, de fortes activités antibactériennes ont été notées à leur égard (Figures 30 et 31). Les meilleures souches ( $P < 0,05$ ) ont été S4/14 à l'égard de EC54 et S3/5 et S6/13 à l'encontre de EC55. Toutefois, les souches S3/5 et S2/19 ainsi que S2/3, S3/6, S6/11, S6/12 et S4/14 ont été aussi performantes. Il est cependant important de noter qu'à l'instar des autres souches d'*E. coli*, la plupart des souches de *Pediococcus* ont une forte activité antibactérienne ( $\varnothing \geq 20$  mm) à l'égard de ces deux souches.

Par comparaison à la souche d'*E. coli* de référence, les souches de *Pediococcus* ont été nettement plus performantes en termes d'activité antibactérienne à l'égard des souches d'*E. coli* isolées localement. Ceci pourrait être dû à leur appartenance à la même niche écologique et pourrait être un indicateur de leur capacité à contrôler l'expansion de cette espèce au niveau de la muqueuse intestinale du poulet.



**Figure 30.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC54, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.



**Figure 31.** Activité antibactérienne (test de spots) des souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers de la région d'Amizour contre la souche d'*E. coli* EC55, isolée de poulailler de la région d'Amizour. Les lettres différentes sur les colonnes indiquent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre les souches lactiques.

**Karimi Torshizi et al. (2008)** ont isolé des souches de *Pediococcus* dont *P. pentosaceus* TMU457 qui présentaient une activité antibactérienne importante contre *E. coli* et *Salmonella* avec des diamètres de 14,1 et 20,3 mm respectivement.

L'étude réalisée par **Raghavendra et Halami (2009)** montre que toutes les souches lactiques isolées de fientes de poulet de chair, présentaient un large spectre d'activité antibactérienne. Parmi ces souches, *P. pentosaceus* CFR R38 présentait une bonne activité antibactérienne (7-26 mm de diamètre de zones d'inhibition) contre *E. coli* MTCC108, *L. monocytogenes* Scott A et *Salmonella* Paratyphi (**Raghavendra et Halami, 2009**).

*P. pentosaceus* et *P. acidilactici* sont les deux espèces les plus reconnues productrices de bactériocines (pediocines) et sont utilisées comme probiotiques en alimentation animale. La pediocine SA-1 produite par *P. acidilactici* NRRL B-5627 est utilisée comme additif en alimentation animale et inhibe *L. monocytogenes* (**Porto et al., 2017**).

Vu les faibles diamètres de zones d'inhibition obtenus avec les souches de *Lactobacillus* isolées du poulailler d'Amizour et en prenant en considération les bons résultats d'activité antibactérienne obtenus avec les souches de *Lactobacillus* isolées du poulailler de Sidi Aich et les souches de *Pediococcus* isolées des poulaillers d'Amizour, la suite des tests réalisés dans cette thèse ont concerné les souches de *Lactobacillus* isolées de Sidi Aich et les souches de *Pediococcus* isolées d'Amizour.

## **5. Résistance aux conditions simulées du transit gastro-intestinal (acidité et bile) des isolats lactiques**

La résistance à l'acidité et la bile sont considérées des critères importants de sélection des probiotiques parce qu'ils doivent survivre aux conditions de tube digestif dont l'acidité et la bile pour exercer leurs effets probiotiques (**Messaoudi et al., 2012**).

### **5.1. Résistance à l'acidité**

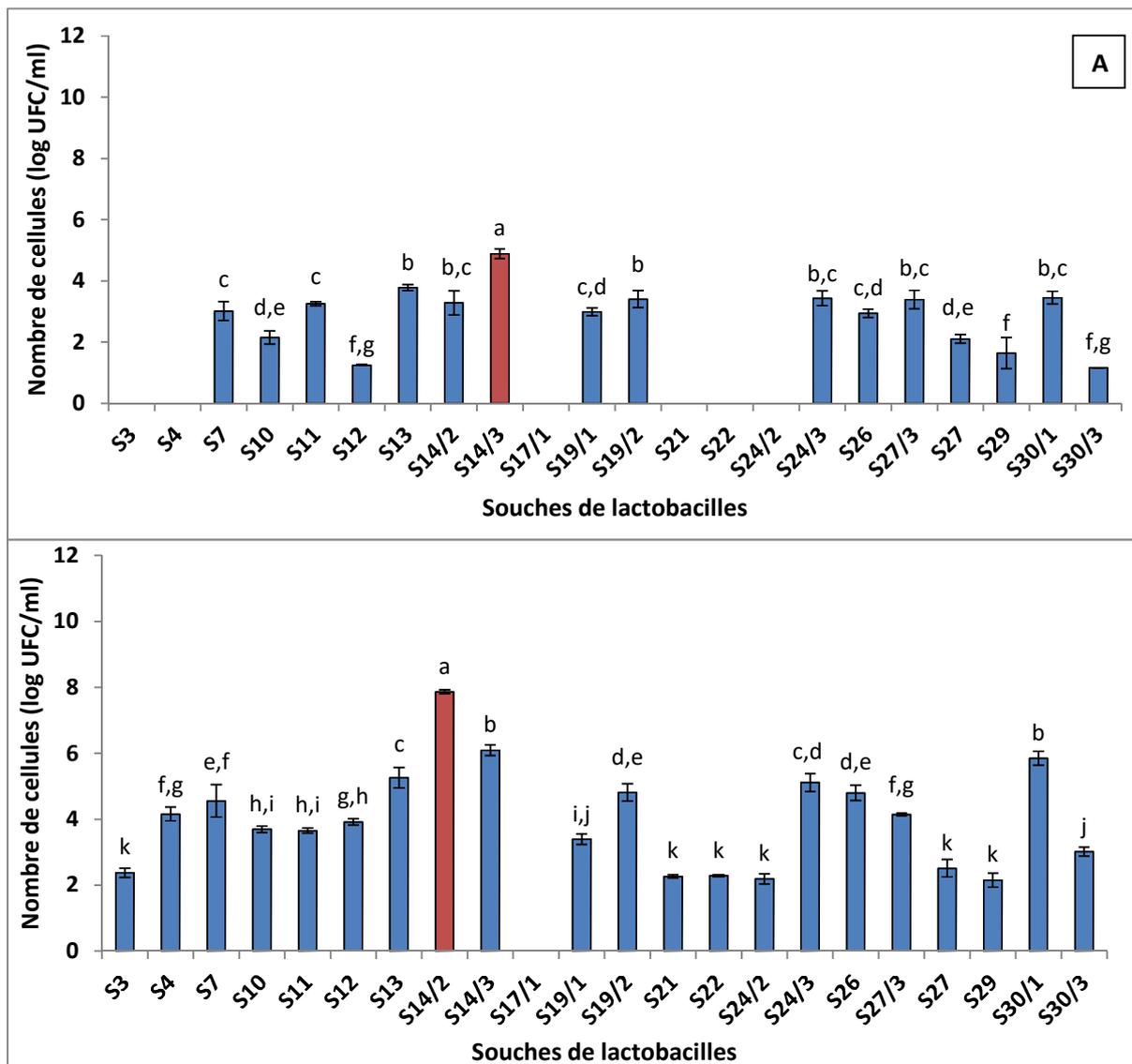
#### **5.1.1. Résistance à l'acidité des isolats de *Lactobacillus***

La résistance à l'acidité a été testée aussi bien dans le PBS que le bouillon MRS. Dans le PBS, les 22 souches de *Lactobacillus* testées ne pouvaient pas résister à des pH < 2. Ainsi, on a remarqué une absence de survie de ces souches aux pH 1/1,5 au bout de 2 heures d'incubation.

A pH 2, seules deux souches de *Lactobacillus* (*Lb. plantarum* S22 et *Lb. plantarum* S27) présentaient une survie remarquable à des taux variables (log<sub>10</sub> UFC/ml = 5,02 et 8,46

log respectivement). Néanmoins, à pH 2,5 toutes les souches de *Lactobacillus* présentaient une certaine tolérance à ce pH.

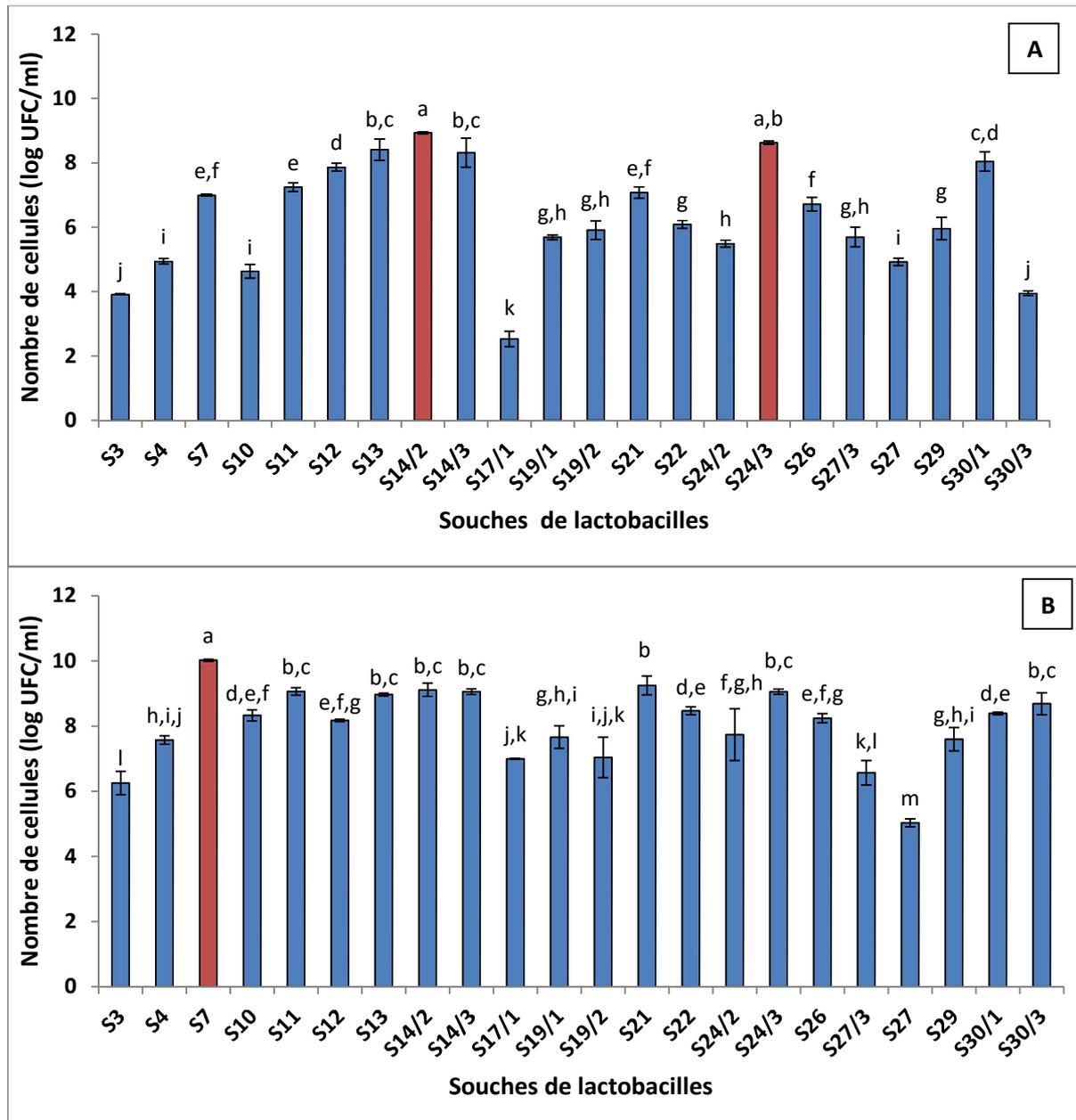
Par contre, dans le bouillon MRS, les souches de *Lactobacillus* ont montré une acidorésistance aux différents pH testés. Aux pH 1,5 et 1, des taux de survie de  $10^4$ - $10^5$  UFC/ml et de  $10^8$ - $10^9$  UFC/ml ont été enregistrés respectivement (Figure 32). Cependant, la souche S17/1 n'a montré aucune tolérance aux pH 1 et 1,5 (Figure 32). Par contre, les souches S3, S4, S21, S22, S24/2 ont été sensibles au pH 1 contrairement au pH 1,5 où elles démontrent une résistance (Figure 32). A pH 1, les souches S13 et S14/3 montrent des taux de survie importants (40,22 % et 49,30 % respectivement). A pH 1,5, la souche S14/2 est la plus résistante avec 81,54 % de survie.



**Figure 32.** Survie au pH 1 (A) et 1,5 (B) des souches de *Lactobacillus* après 2 h d'incubation dans du bouillon MRS

Au pH 2, des taux de survie remarquables ont été notés allant de 40,40 % pour la souche S3 à 92,57 pour la souche S14/2 (Figure 33).

Au pH 2,5, toutes les souches ont montré une bonne survie allant jusqu'au taux de  $10^{10}$  UFC/ml (Figure 33). Le taux de survie a été supérieur à 50 % pour toutes les souches et a atteint 99,41 pour la souche S7.



**Figure 33.** Survie au pH 2 (A) et 2,5 (B) des souches de *Lactobacillus* après 2 h d'incubation dans du bouillon MRS

### 5.1.2. Résistance à l'acidité des isolats de *Pediococcus*

Au vu des résultats obtenus avec les souches de lactobacilles qui ont révélé que seules 19 souches ont été résistantes à l'acidité dans le bouillon MRS aux pH  $\geq 2$ , la résistance à l'acidité des souches de *Pediococcus* a été testée dans du PBS à des pH de 2 ; 2,5 et 3.

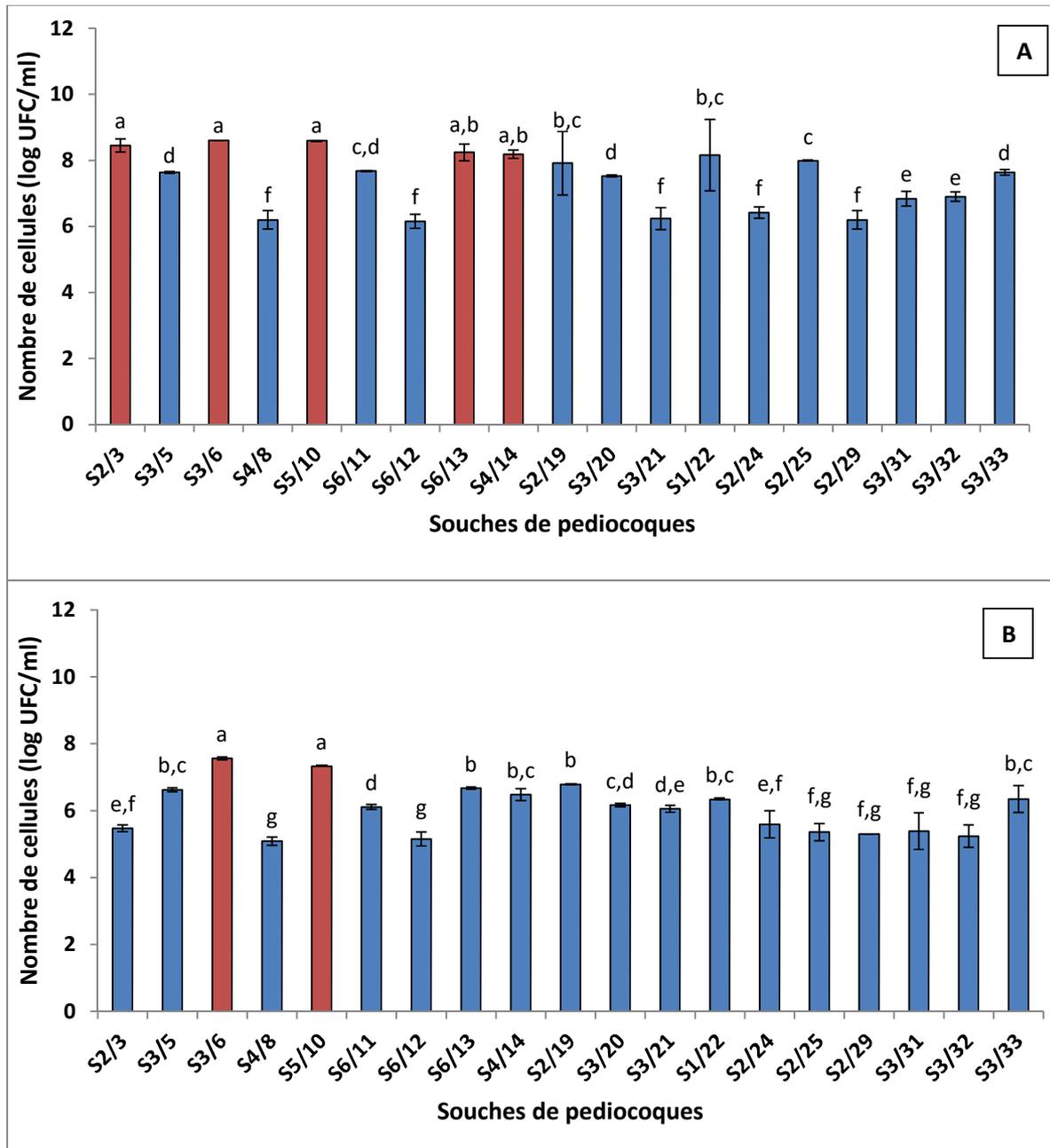
A pH 2, toutes les souches de *Pediococcus* ont montré une résistance après 2 h et 3 h d'incubation. Une diminution de 2 logs (UFC/ml) a été observée pour certaines souches après 2 h d'incubation (S2/3, S3/5, S3/6, S5/10, S6/11, S6/13, S4/14, S2/19, S1/22, S2/25 et S3/33) alors que cette diminution atteint 4 logs (UFC/ml) pour d'autres souches (S4/8, S6/12, S3/21, S2/24 et S2/29). Le nombre de cellules a marqué une plus grande diminution après 3 h d'incubation avec 4 logs (UFC/ml) pour la majorité des souches. Ainsi, les souches S3/6 et S5/10 présentaient la meilleure tolérance au pH 2 après 2 h et 3 h d'incubation (Figure 34). Des taux de survie très importants ont été obtenus à ce pH après 2 et 3 h d'incubation. En effet, on note des taux de 60 % à 82,55 % après 2 h d'incubation, alors ce taux a été de 72,12 % au maximum après 3 h d'incubation. Ces valeurs maximales ont été obtenues avec la souche S3/6 ( $P < 0,05$ ) pour les deux périodes d'incubation.

A pH 2,5 et après 2 h et 3 h d'incubation, toutes les souches présentaient une même tolérance à ce pH. Une diminution du nombre de cellules de 0,2 log (UFC/ml) après 2 h et de 4 logs après 3 h a été enregistré pour la plupart des souches à l'exception de S2/3 et S3/31 qui n'ont montré aucune diminution. Il est à noter que la souche S4/8 présentait la plus faible tolérance à ce pH. Des taux de survie dépassant 92,87 % à ce pH après 3 h d'incubation et atteint 100 % à 2 h d'incubation. La souche S2/3 présente les taux de survie les plus importants avec 100 % et 99,62 % après 2 h et 3h d'incubation respectivement.

A pH 3, la tolérance variait d'une souche à une autre et d'une durée d'incubation à un autre. Toutefois, cette variation reste non significative ( $P > 0,05$ ). Au bout de 2 h, les souches S2/3, S3/6, S5/10 et S2/24 présentaient la meilleure tolérance avec une faible diminution du nombre de cellules (0,1 log). D'autres souches ont montré une diminution de 0,2 log.

Après 3 h, on observe toujours une tolérance des souches à ce pH avec un taux de diminutions du nombre de cellules plus important de l'ordre de 0,3 log.

Des taux de survie de l'ordre de 98 % à 99 % ont été obtenus avec toutes les souches après 2 et 3 h d'incubation. La souche S2/3 présente le taux de survie le plus important après 2 heures d'incubation (99,80%), alors que la souche S3/5 après 3 h (99,88 %). La différence est non significative à pH 3 après 2 et 3 h d'incubation ( $P > 0,05$ ).



**Figure 34.** Survie au pH 2 des souches de *Pediococcus* après 2 h (A) et 3 h (B) d'incubation dans du PBS.

Dans leur étude, **Rodriguez-Palacios et al. (2009)** ont montré que la souche *P. acidilactici* B94 présente une résistance à pH 4 avec 61,2 % de survie après 24 h d'incubation.

Les souches de *P. pentosaceus* isolées au cours de l'étude réalisée par **Vidhyasagar et Jeevaratnam (2013)** ont montré une résistance au pH 2 après 2 h d'incubation. De même, des isolats de la même espèce (*P. pentoseceus*) ont été étudiés par **Gupta et Sharma (2015)** et ont montré que ces isolats ont été capables de résister à pH 3 après 3 h d'incubation. Une autre étude utilisant la souche *P. acidilactici* Kp10 a montré la résistance de cette souche au pH 3 après 1 à 3 h avec un pourcentage de survie >97 % (**Abbasiliasi et al., 2012**).

## 5.2. Résistance à la bile

### 5.2.1. Résistance à la bile des isolats de *Lactobacillus*

Les résultats montrent une très bonne survie des 22 souches isolées de la commune de Sidi Aich à une concentration en bile équivalente à 0,1 % dans du bouillon MRS. Une réduction qui variait de 0,03 à 1,57 log a été observée au bout de 4 h d'exposition. La plupart des souches ont montré une survie très importante à cette concentration. Seules les souches S21, S24/3 et S27/3 ont été considérées comme étant sensibles aux trois concentrations en bile (0,1 ; 0,3 et 0,5 %) avec une absence de survie à 0,5 % en bile pour la souche S24/3 (Figure 35). Des taux de survie très importants et presque équivalents ont été notés pour toutes les souches à différentes concentrations en bile (0,1 % ; 0,3 % et 0,5 %) avec une légère diminution du taux de survie en augmentant la concentration en bile de 0,1 % à 0,5 %. La souche S24/2 présente le taux de survie le plus important à ces trois concentrations en bile avec des valeurs de 99,03 %, 98,77 % et 98,56 % à 0,1 %, 0,3 % et 0,5% respectivement.

La différence est non significative entre la majorité des souches à 0,1 % de bile ( $P > 0,05$ ). La souche S24/2 montre une différence hautement significative à 0,3 % et 0,5% de bile ( $P < 0,05$ ).

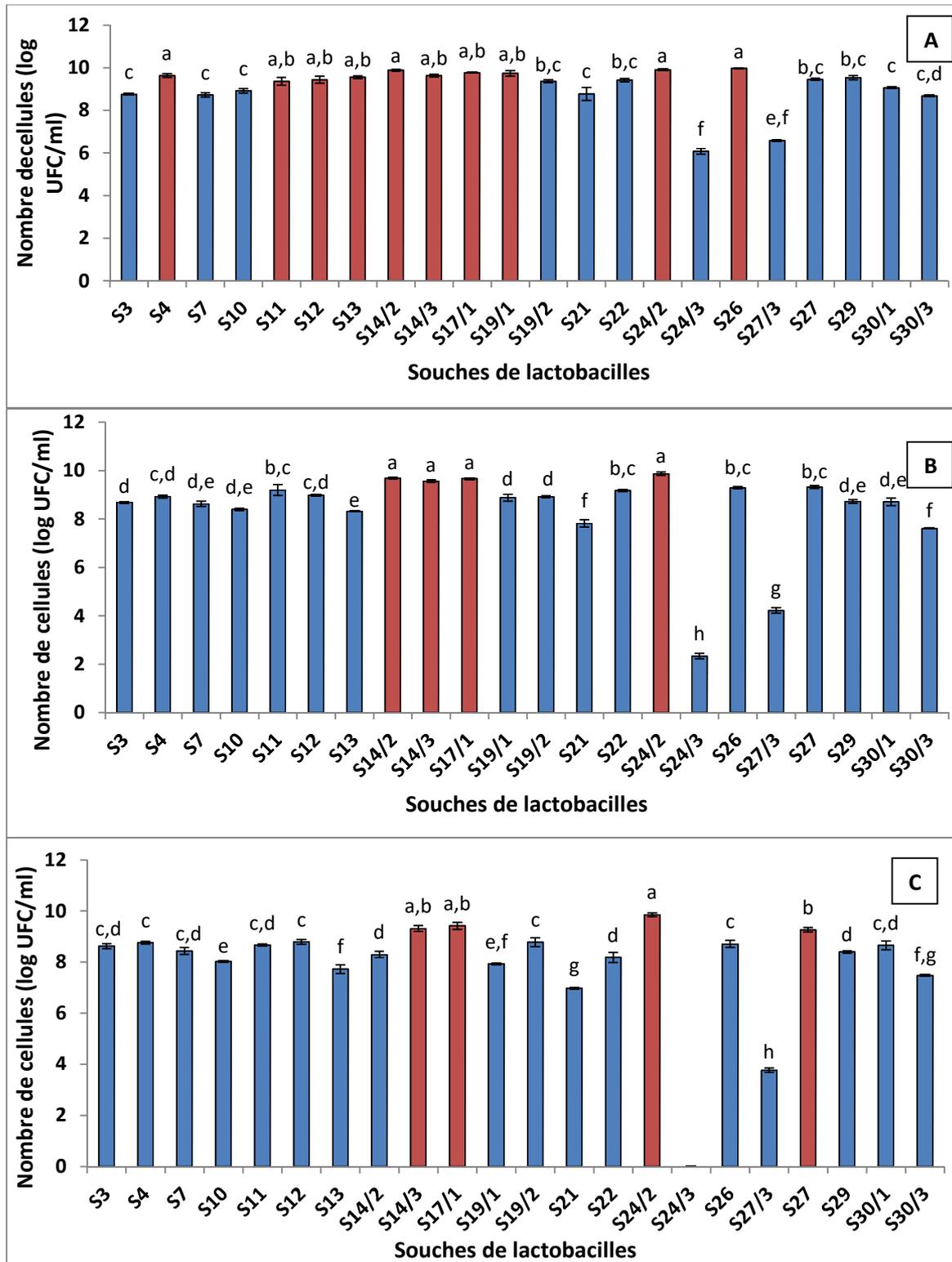


Figure 35. Résistance à 0,1 % (A), 0,3 % (B) et 0,5 % (C) de bile des souches de *Lactobacillus* après 4 h d'incubation dans du bouillon MRS

Les caractéristiques probiotiques des lactobacilles ont été étudiées par plusieurs auteurs dans le but de sélectionner des souches probiotiques. Des souches de *Lb. fermentum* ont été testées quant à leur résistance à 0,3 % de bile pendant 4 h par **Lin et al. (2007)**. Les résultats montrent la résistance à 100 % de la souche *Lb. fermentum* SG2. Cependant, d'autres souches (*Lb. fermentum* PG3 et *Lb. fermentum* PGM3) ont été sensibles et complètement éliminées par cette concentration au bout des 4 h d'incubation (**Lin et al., 2007**).

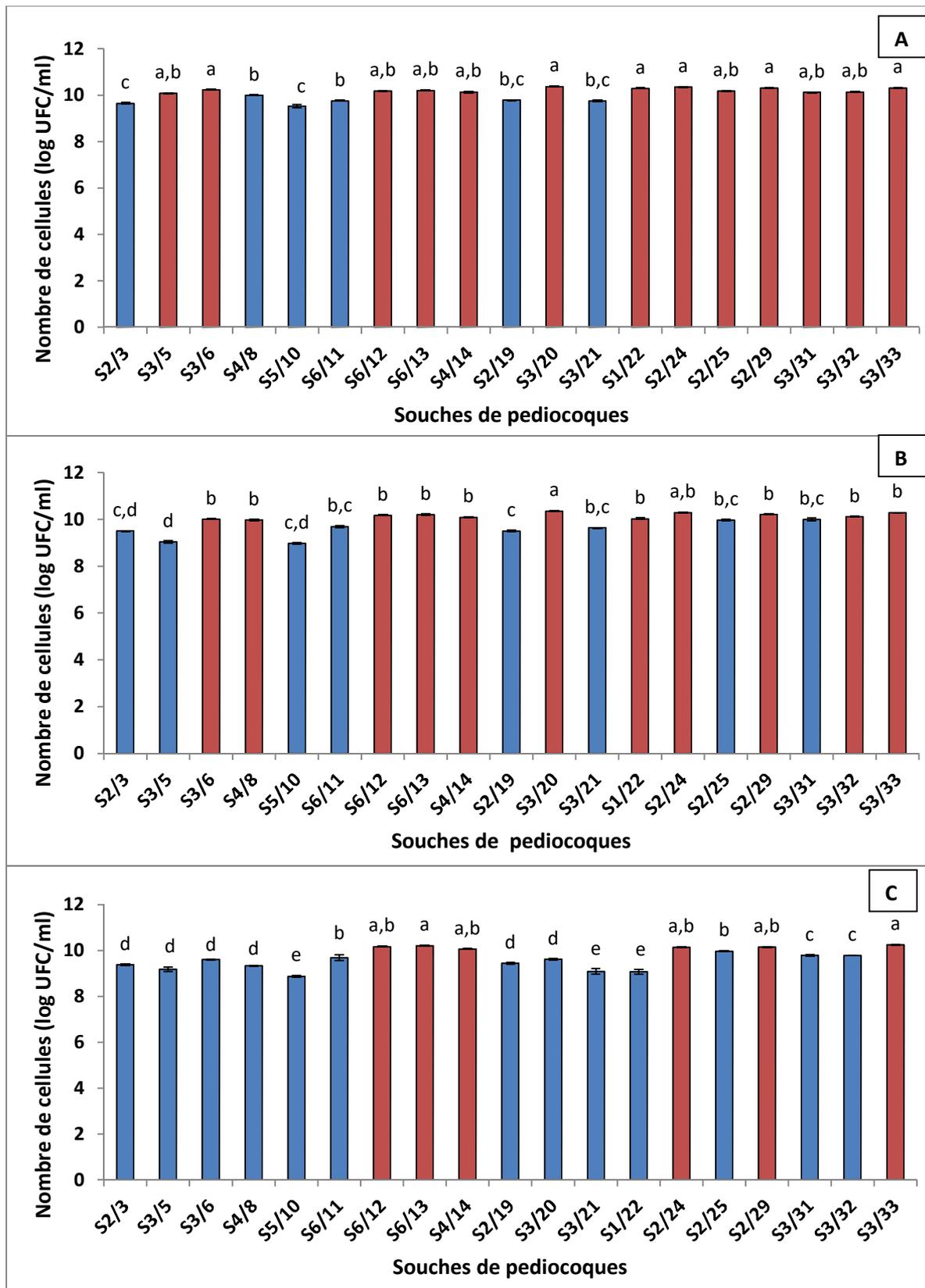
L'étude réalisée par **Argyri et al. (2013)** a montré la résistance de la majorité des souches de *Lactobacillus* à 0,5 % de bile après 4 h d'incubation avec une faible diminution du nombre de cellules (< 1 log). Trois souches de *Lb. pentosus* (625A, E110 et E182) présentent une réduction de 2 logs du nombre de cellules viables (**Argyri et al., 2013**).

### 5.2.1. Résistance à la bile des isolats de *Pediococcus*

Les isolats de *Pediococcus* ont également été testés pour leur résistance à différents pourcentages de bile (0,1 % ; 0,3 % et 0,5 %) dans du PBS pendant 4 h. Les résultats sont mentionnés sur la figure 36.

En présence de 0,1 % de bile, toutes les souches de *Pediococcus* ont montré une bonne résistance avec des différences entre les souches (Figure 36). S3/20, S2/24, S2/29 et S3/33 ont été les souches qui résistaient le mieux à 0,1% de bile avec un pourcentage de survie presque de 100% (99,97 %, 99,86 %, 99,76 % et 99,03 % respectivement). Les souches S2/3, S5/10, S2/19 et S3/21 ont par contre été les souches les moins résistantes à 0,1 % de bile en démontrant une diminution de 0,8 log, 1 log, 0,5 log et 0,6 log (UFC/ml) respectivement avec des taux de survie de 92,36 %, 91,00 %, 95,03 % et 94,90 % respectivement.

Les souches les plus résistantes à 0,3% en bile pendant 4 h sont S3/20, S2/24 avec un pourcentage de survie de 99,77% et 99,% respectivement. Les autres souches présentaient des taux de diminution variables en nombre de cellules. Cependant, les souches S2/3, S3/5, S5/10 et S2/19 ont été les plus sensibles avec des diminutions de 1 log ; 1,4 log ; 1,5 log et 0,5 log respectivement. Les deux souches S3/5 et S5/10 présentent les taux de survie les plus faibles (87,29 % et 85,74 % respectivement). Les souches S6/13 et S3/33 sont les souches les plus résistantes à 0,5 % en bile avec une survie de 97,78 % et 98,54 % respectivement. Les souches S3/5, S5/10, S3/21 et S1/22 sont les souches les plus sensibles avec une diminution de 1 log ; 1,2 log ; 1,6 log ; 1,18 log et 1,31 log respectivement, avec des taux de survie respectivement : 88,69 %, 84,75 %, 88,51% et 87,33 %. La plupart de souches montre une différence non significative entre elles ( $P > 0,05$ ).



**Figure 36.** Résistance à 0,1 % (A), 0,3 % (B) et 0,5 % (C) de bile des souches de *Pediococcus* après 4 h d'incubation dans du PBS.

Il a été rapporté que la souche *P. acidilactici* Kp10 montre une résistance à la bile (0,3 %) après 1 h (95% de survie) et 4 h (89% de survie) d'incubation (**Abbasiliasi et al., 2012**). De même, les souches *P. pentosaceus* CFR R38 et *P. pentosaceus* CFR R35 ont été démontrées capables de survivre pendant 4 h d'incubation à cette concentration (**Raghavendra et Halami, 2009**). La même année, la souche *P. acidilactici* B94 a été rapportée résistante à 0,3% de bile avec 89,3% de survie au bout de 24 h d'incubation (**Rodriguez-Palacios et al., 2009**).

## **6. Identification moléculaire des isolats lactiques (*Lactobacillus* et *Pediococcus*)**

### **6.1. Identification moléculaire des isolats de *Lactobacillus***

Un isolement de souches de *Lactobacillus* a été réalisé à partir des échantillons de fientes d'un poulailler de Sidi Aich (poulailler 01) et du poulailler 10 de la commune d'Amizour (wilaya de Béjaïa).

Les résultats d'isolement effectué au niveau du poulailler 01 de Sidi Aich montrent que sur un total de 30 échantillons, 22 isolats ont été identifiés appartenant au genre *Lactobacillus*. Treize souches ont été identifiées en tant que *Lactobacillus plantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum*), sept souches comme *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*) et deux souches en tant que *Lactobacillus casei* (*Lacticaseibacillus casei*) (tableau X).

**Tableau X.** Résultats de l'identification des souches de *Lactobacillus* isolées des poulaillers de Sidi Aich (W. Béjaia) par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

Souche	Echantillon	Identification	Nouvelle nomenclature (Zheng et al., 2020)	Score MALDI-TOF
S3	E3	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,00
S4	E4	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1,98
S7	E7	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,43
S10	E10	<i>Lb. casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	1,94
S11	E11	<i>Lb. casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	1,96
S12	E12	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2,00
S13	E13	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2,00
S14/2	E14	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2,33
S14/3	E14	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	1,99
S17	E17	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2,00
S19/1	E19	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2,00
S19/2	E19	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1,96
S21	E21	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1,96
S22	E22	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,00
S24/2	E24	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,00
S24/3	E24	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1,99
S26	E26	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2,00
S27	E27	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,23
S27/3	E27	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,08
S29	E29	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,02
S30/1	E30	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,08
S30/3	E30	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1,93

Signification des codes : Ex. S14/2 indique la souche isolée de l'échantillon 14/colonie 2

Dans le poulailler 10 de la commune d'Amizour, sur un total de 29 souches isolées de *Lactobacillus*, 27 souches ont été soumises à l'identification moléculaire par spectrométrie de masse MALDI-TOF (les souches S4/20 et S4/25 ne présentaient d'activité antibactérienne). Les résultats montrent que dix-neuf souches ont été assignées à *Lb. plantarum*, six à *Lb. paracasei* et une seule à *Lb. brevis*. Une seule souche (S2/8) présumée phénotypiquement appartenir à *Lactobacillus* a été identifiée comme étant *Pediococcus acidilactici* (tableau XI et XII).

**Tableau XI.** Résultats de l'identification des souches de *Lactobacillus* isolées du poulailler de la commune d'Amizour (W. Béjaia) par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

Souche	Echantillon	Identification	Nouvelle nomenclature (Zheng et al., 2020)	Score MALDI-TOF
S1/1	E1	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	2,28
S1/2		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1,96
S1/3		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,33
S1/4		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	1,96
S1/5		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,26
S2/6	E2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,27
S2/7		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,26
S2/8		<i>Pediococcus acidilactici</i>	/	2,00
S2/9		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,15
S2/10		<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>	2,22
S2/11		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,28
S3/12	E3	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,36
S3/13		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,33
S3/14		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,30
S4/15	E4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,12
S4/16		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,30
S4/17		<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	2,38
S4/18		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,23
S4/19		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,04
S4/21		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,42

Signification des codes : Ex. S1/1 indique la souche isolée de l'échantillon 1/colonie 1

**Tableau XII** : Résultats de l'identification des souches de *Lactobacillus* isolées du poulailler de la commune d'Amizour (W. Béjaia) par spectrométrie de masse MALDI-TOF (suite).

Souche	Echantillon	Identification	Nouvelle nomenclature (Zheng et al., 2020)	Score MALDI-TOF
S4/22	E4	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	2,35
S5/23	E5	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,38
S5/24		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,36
S5/26		<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	2,53
S5/27		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	2,30
S5/29		<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	2,35
S5/30		<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	2,36

Signification des codes : Ex. S1/1 indique la souche isolée de l'échantillon 1/colonie 1

**Kizerwelter-Swida et Binek (2005)** ont isolé plusieurs souches de *Lactobacillus* à partir des fientes de poulets de chair. L'identification moléculaire par PCR a montré la présence de *Lb. plantarum* parmi les souches isolées et identifiées.

Dans leur étude, **Ben Salah et al. (2012)** ont montré la présence du genre *Lactobacillus* dans le tube digestif du poulet de chair et ont sélectionné la souche *Lb. plantarum* TN8 à fort potentiel probiotique.

**Noohi et al. (2014)**, en utilisant des techniques d'identification moléculaire (PCR et séquençage de l'ADNr 16 S), ont démontré la présence de certaines espèces de *Lactobacillus* dans les fientes de poulets de chair. Parmi ces espèces, *Lb. plantarum* représentait 3% des espèces identifiées (**Noohi et al., 2014**).

Les deux espèces *Lb. plantarum* et *Lb. paracasei* ont été isolées à partir des fientes de poulets de chair par **Shazali et al. (2014)**. Dans leur étude, ils ont rapporté la prédominance de *Lb. paracasei* dans les échantillons de fientes collectés (**Shazali et al., 2014**).

L'étude réalisée par **Lin et al. (2007)** a montré la présence de *Lb. fermentum* dans les fientes de poulet de chair avec un potentiel probiotique important.

Plusieurs souches de *Lactobacillus* ont été isolées à partir de différents échantillons prélevés chez le poulet de chair (fientes, pro-ventricule, gésier, iléon et le caecum). *Lb. fermentum* LPB a été l'une des souches isolées ayant montré une grande efficacité sur l'amélioration de la croissance du poulet de chair (Reque et al., 2000).

*Lb. casei* est parmi les espèces de *Lactobacillus* isolées par Asghar et al. (2016) à partir de poulet de chair. La souche *Lb. casei* SMP64 a montré un effet promoteur sur la prise de poids des poussins.

## 6.2. Identification moléculaire des isolats de *Pediococcus*

Au cours de cette étude, sur un total de 19 isolats présumés appartenir au genre *Pediococcus*, dix-sept ont été assignés à une seule espèce *Pediococcus acidilactici*, une souche (S2/3) à *Enterococcus faecalis* et une seule souche (S4/8) à *Lactobacillus plantarum* suite à leur identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Tableau XIII).

**Tableau XIII.** Résultats de l'identification des souches de *Pediococcus* par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

Souche	Echantillon	Identification	Score MALDI-TOF
S2/3	E2	<i>Enterococcus faecalis</i>	2,49
S3/5	E3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,10
S3/6		<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,16
S4/8	E4	<i>Lactobacillus plantarum</i> ( <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> )	2,25
S5/10	E5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,78
S6/11	E6	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,00
S6/12		<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,87
S6/13		<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,14
S4/14	E4	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,86
S2/19	E2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,16
S3/21	E3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,92
S3/21		<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,90
S1/22	E1	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,02
S2/24	E2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,89
S2/25		<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,98
S2/29		<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,01
S3/31	E3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,06
S3/32		<i>Pediococcus acidilactici</i>	2,17
S3/33		<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,93

Signification des codes, exp. S3/5 indique que la souche a été isolée de l'échantillon 3, colonie 5

Le genre *Pediococcus* fait partie de la microflore intestinale de poulet de chair et a été isolé par plusieurs chercheurs. L'espèce *P. pentosaceus* a été isolée par **Chen et al. (2017)** à partir du caecum, avec un fort potentiel probiotique.

Quatre souches de *P. acidilactici* nommées : I5, I8, c3 et I13 ont été isolées de l'intestin et du jabot de poulet de chair et ont été caractérisées pour leurs propriétés probiotiques (**Reuben et al., 2019**).

Une autre étude réalisée par **Salehizadeh et al. (2020)**, dans le but de sélectionner des souches probiotiques, ayant une activité antibactérienne contre *Salmonella* Typhimurium, a permis d'isoler à partir des fientes de poulet de chair cinq souches appartenant à *P. acidilactici*.

Plusieurs travaux révèlent l'importance de l'espèce *P. acidilactici* comme additif alimentaire et rapportent des résultats positifs sur la santé et la croissance des animaux. Cette espèce est très utilisée comme probiotique en alimentation animale et spécifiquement en aviculture (**EFSA, 2012 ; Mikulski et al., 2012 ; Feng et al., 2016**).

Dans l'étude réalisée par **Temim et al. (2009)** sur l'effet de *P. acidilactici* chez le poulet de chair, son incorporation dès le premier jour d'éclosion, où le tube digestif des poussins est encore stérile, a permis une colonisation dirigée du tube digestif des poussins nouvellement éclos, par cette espèce à fort pouvoir inhibiteur, plutôt que de laisser s'installer naturellement une flore lactique apportée par l'environnement, dont l'installation reste tardive (à partir du 5<sup>ème</sup> jour). Cette étude montre aussi une baisse de la consommation alimentaire des poulets qui serait en relation avec une meilleure utilisation métabolique de l'aliment (**Temim et al., 2009**).

De même, l'efficacité d'utilisation des souches de *Pediococcus* comme probiotiques pour lutter contre les parasites à l'origine de la coccidiose chez le poulet de chair a été mis en évidence par **Lee et al. (2007)**.

## **7. Propriétés de surface des isolats de *Pediococcus***

L'hydrophobicité et l'auto-agrégation sont des paramètres très importants pour sélectionner une souche probiotique. Les bactéries lactiques hydrophobes et qui ont la capacité d'agrégation sont plus capables d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales.

### 7.1. Hydrophobicité

Les résultats de l'étude de ce paramètre indiquent l'hydrophobicité des souches de *Pediococcus* étudiées (53,8 et 77,90 % pour la majorité des souches), avec un meilleur résultat obtenu avec la souche S3/32. Cependant, deux souches S2/24 et S2/25 montrent de faibles valeurs de 38,45 et 29,10% respectivement (Figure 37). L'étude statistique montre une différence significative entre les souches S3/6, S2/24, S2/25 et S2/29 ( $P < 0,05$ ).

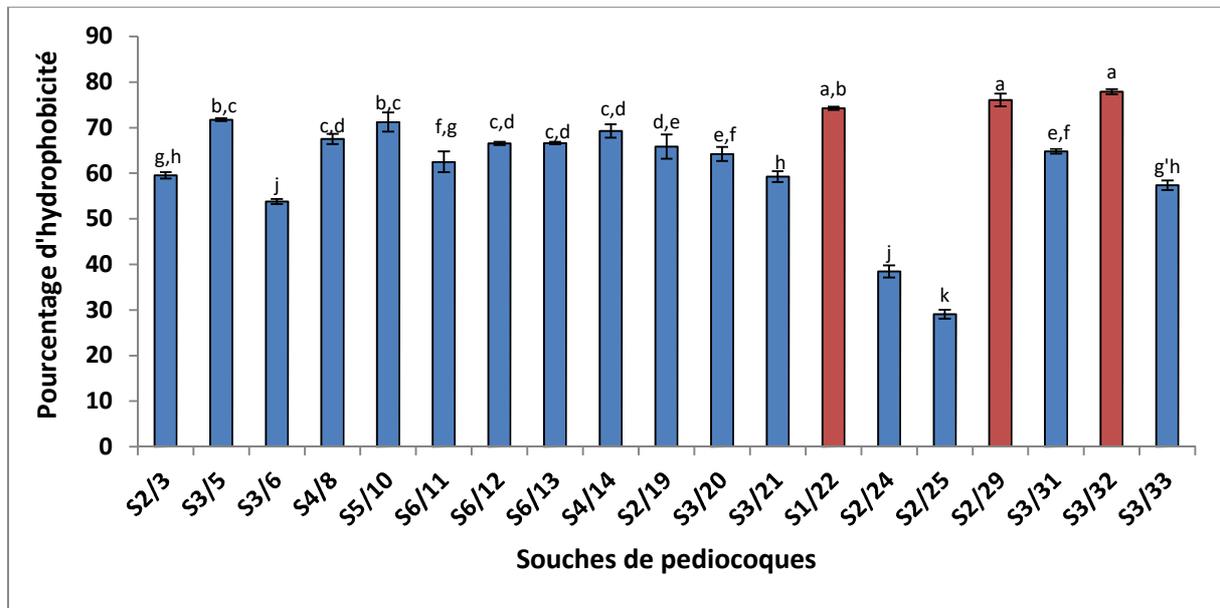


Figure 37. Hydrophobicité (%) des souches de *Pediococcus*

L'hydrophobicité des surfaces cellulaires est un caractère très important qui facilite le premier contact entre le microorganisme et son hôte (Messaoudi et al., 2012). L'affinité pour les solvants apolaires (comme le xylène) indique la nature hydrophobe de la surface. Une importante hydrophobicité est liée aux glycoprotéines des surfaces cellulaires, par contre, une faible hydrophobicité est due à la présence des exopolysaccharides à la surface des cellules bactériennes (Abbasiliasi et al., 2017).

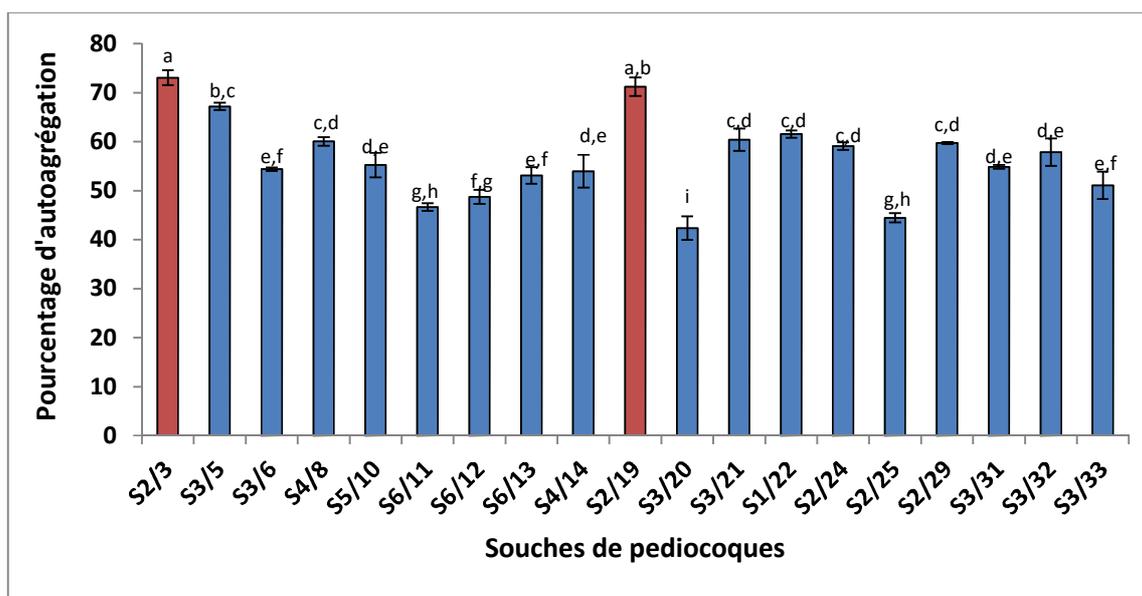
L'étude réalisée par Abbasiliasi et al. (2017) en utilisant plusieurs solvants montre que *P. acidilactici* Kp10 a une grande affinité pour le xylène (46,97 %) par rapport à d'autres solvants (chloroforme 12,42 %, acétate d'éthyle 5,65%) ; ce qui indique que les cellules sont hydrophobes. Reuben et al. (2019) ont étudié le caractère hydrophobe de certaines souches de bactéries lactiques isolées du tube digestif de poulet de chair dans le but de sélectionner une souche probiotique à application dans l'élevage de poulet de chair. Les résultats ont montré des pourcentages d'hydrophobicité importants allant de 61,50 % pour *P. acidilactici* 15 à 70 % pour *P. acidilactici* c3. Une autre espèce de *Pediococcus* (*P. pentosaceus*), isolée

d'intestin du poulet de chair, a été étudiée par **Raghavendra et Halami (2009)** pour ses propriétés probiotiques. Les résultats ont montré que les deux souches *P. pentosaceus* CFR R35 et *P. pentosaceus* CFR R38 ont de bons pourcentages d'hydrophobicité avec le xylène : 54,6 et 44,8 % respectivement.

La majorité de nos souches présentent des pourcentages d'hydrophobicité plus importants que ceux rapportés par **García-Hernández et al. (2016)** qui ont trouvé de faibles pourcentages d'hydrophobicité (entre 25 et 30 % pour *P. pentosaceus* LB 12 et LB 25).

## 7.2. Auto-agrégation

Le test d'auto-agrégation des souches de *Pediococcus* a été réalisé et les résultats révèlent des valeurs supérieures à 42,36%. La souche S2/3 présente le meilleur pourcentage d'auto-agrégation de 73,06% (Figure 38). Une différence non significative a été observée entre les souches ( $P > 0,05$ ).



**Figure 38.** Auto-agrégation (%) des souches de *Pediococcus*

L'auto-agrégation est un caractère très important dans la sélection de souches probiotiques ; elle s'effectue entre les cellules de la même espèce ou de même genre. La grande capacité d'auto-agrégation suggère que les souches peuvent être très utiles dans la formation de biofilm ou dans la colonisation de tube digestif ce qui permet d'avoir une barrière contre la colonisation des bactéries pathogènes (**Norma et al., 2013**).

*P. acidilactici* Kp10 isolée par **Abbasiliasi et al. (2017)** montre de bons résultats d'auto-agrégation (35,2 %). Une autre étude réalisée par **Reuben et al. (2019)** montre que les

souches de *Pediococcus* qu'ils ont isolé du tube digestif de poulet de chair présentent des pourcentages d'auto-agrégation importants de l'ordre de 32,5 %, 47 % et 51 % pour les souches *P. acidilactici* I5, I8 et c3 respectivement, et de 56,5 % pour *P. pentosaceus* I13.

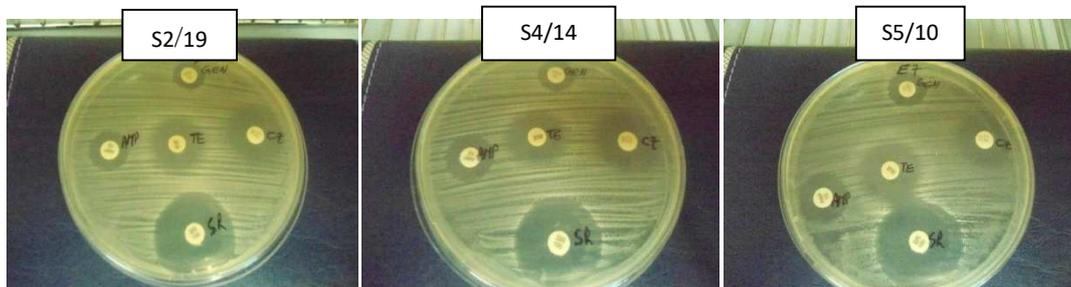
### 8. Résistance aux antibiotiques des souches de *Pediococcus*

Toutes les souches de *Pediococcus* étudiées ont montré une sensibilité aux quatre antibiotiques utilisés dans cette étude : l'érythromycine, ampicilline, imipénème et la tétracycline (tableau XIV et Figure 39).

**Tableau XIV.** Profile de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pediococcus* (E : Erythromycine ; AMP : Ampicilline ; TE : Tétracycline ; IPM : Imipénème)

Souche	E		AMP		TE		IPM	
	Diamètre (mm)	Résultat						
S2/3	34	S	20	S	25	S	34	S
S3/5	35	S	18	S	20	S	33	S
S3/6	35	S	20	S	22	S	39	S
S4/8	33	S	19	S	23	S	38	S
S5/10	35	S	19	S	21	S	36	S
S6/11	32	S	16	S	21	S	35	S
S6/12	34	S	16	S	20	S	34	S
S6/13	30	S	18	S	23	S	37	S
S4/14	36	S	21	S	22	S	37	S
S2/19	35	S	18	S	21	S	32	S
S3/20	35	S	16	S	19	S	35	S
S3/21	35	S	21	S	21	S	32	S

S: Sensible



**Figure 39.** Profile de sensibilité aux antibiotiques de quelques souches de *Pediococcus* (E : Erythromycine ; AMP : Ampicilline ; TE : Tétracycline ; IPM : Imipénème)

L'étude de la sensibilité de la souche *P. acidilactici* Kp10 a montré qu'elle est sensible aux antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines (penicilline G et ampicilline), mais aussi à l'érythromycine, chloramphénicol, nitrofurantoïne et à la tétracycline (Abbasilasi et al., 2012).

Une autre étude réalisée par Karimi Torshizi et al. (2008) dans le but de sélectionner une souche probiotique a montré que la souche *P. pentosaceus* TMU 457 présente une sensibilité à l'amykacine, gentamicine, kanamycine et chlorophénicol mais une résistance à la tétracycline.

### 9. Activité hémolytique des isolats de *Lactobacillus* et de *Pediococcus*

Les isolats de *Lactobacillus* et de *Pediococcus* présentaient une absence de zones d'hémolyse autour des spots ce qui indique que ces souches sont non hémolytiques. Santini et al. (2010) ont trouvé que les souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont non hémolytiques.

Une sélection de la meilleure souche de lactobacilles a été réalisée au terme des tests précédents (propriétés probiotiques et hémolyse). Etant donné que les souches de *Lactobacillus* isolées de la région d'Amizour ont montré de faibles activités antibactériennes par rapport aux souches de *Lactobacillus* isolées de la région de Sidi Aich, la sélection a été réalisée parmi ces dernières. Parmi les 22 souches de *Lactobacillus* isolées de cette région, la souche S27 a été choisie et considérée comme étant la plus performante aussi bien sur le plan résistance au transit gastro-intestinal, activité antibactérienne qu'innocuité.

D'autres tests ont été poursuivis sur la souche sélectionnée à savoir la résistance aux antibiotiques, capacité d'adhésion aux cellules intestinales et une étude *in vivo* chez le poulet de chair.

### 10. Résistance aux antibiotiques de *Lb. plantarum* S27

Le profil de résistance de la souche de *Lb. plantarum* S27 aux antibiotiques les plus communément utilisés en élevage de poulet de chair est présenté dans le tableau XV.

**Tableau XV.** Sensibilité aux antibiotiques de la souche *Lactobacillus plantarum* S27

Antibiotique	Dose	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Résultats
Pénicilline	10 UI	31	Sensible
Erythromycine	15 UI	35	
Streptomycine	10 UI	15	
Amoxicilline/acide clavulanique	30 $\mu$ g	10	

UI : Unité Internationale

**Santini et al. (2010)** ont étudié le profil de résistance aux antibiotiques de certaines souches de bactéries lactiques. Les résultats ont montré la sensibilité de toutes les souches lactiques à l'érythromycine, tétracycline, triméthoprimé et l'ampicilline et de trois souches de *Lb. plantarum* à la streptomycine.

La souche *Lb. plantarum* TN627 a été étudiée pour son caractère probiotique par **Bejar et al. (2011)**. L'un des caractères étudiés est la résistance aux antibiotiques et les résultats ont montré la sensibilité de cette souche à la majorité des antibiotiques testés (pénicilline G, oxacilline, vancomycine, oflaxacine, chloramphénicol, tétracycline, érythromycine, pristinaamycine, lincomycine, streptomycine, gentamicine, kanamycine, tobramycine, rifampicine...etc). De même, **Ben Salah et al. (2012)** en étudiant le profil de sensibilité aux antibiotiques de trois souches de *Lb. plantarum* TN1, TN8 et TN13, ont montré leur sensibilité à dix-neuf antibiotiques (pénicilline G, streptomycine, tétracycline, gentamicines,...etc.) sur la totalité des 21 antibiotiques testés.

### 11. Capacité d'adhésion aux cellules intestinales de *Lb. plantarum* S27

La capacité d'adhérence des bactéries aux cellules épithéliales intestinales est un autre critère fiable pour la sélection des souches probiotiques et un facteur important pour l'activité antagoniste contre les agents entéropathogènes (**Ben Salah et al., 2012**).

La capacité d'adhésion de la souche *Lb. plantarum* S27 aux cellules intestinales a été étudiée en utilisant des cellules épithéliales isolées d'un segment intestinal de poulet. Une suspension initiale de *Lb. plantarum* S27 de  $10^5$  UFC/ml a été ajoutée à  $3.10^6$  cellules/ml de cellules épithéliales et mise en contact pendant 2 h à 37°C. Une adhérence significative d'un nombre de  $9.10^4$  UFC/ml a été observée.

Cette souche (*Lb. plantarum* S27) a démontré une capacité d'adhérence supérieure à celle retrouvée chez la souche *Lb. salivarius* SMXD51 (1 %) testée par **Messaoudi et al. (2012)** en utilisant les cellules Caco-2/TC7 avec une charge bactérienne initiale de  $10^8$  UFC/ml. Les deux souches de *Lb. plantarum* (TN1 et TN8) étudiées par **Ben Salah et al. (2012)** pour leur capacité d'adhésion aux entérocytes collectées de trois parties du tube digestif de poulet de chair (duodénum, jéjunum et iléon) ont montré une grande capacité d'adhésion à ces cellules épithéliales intestinales. La souche TN8, isolée du gésier, montre une bonne adhésion par rapport à la souche TN1 isolée de l'iléon.

**Bejar et al. (2011)** ont testé les différentes propriétés probiotiques d'une souche de *Lb. plantarum* (TN627). L'un des tests réalisés était la capacité d'adhésion aux cellules épithéliales de poulet de chair. Les résultats ont montré une bonne adhésion de cette souche

au duodénum et au jéjunum par rapport à l'iléon et la distribution des cellules a été uniforme sur toute la surface des cellules épithéliales. De leur côté, **Lin et al. (2007)** ont isolé des souches de *Lb. fermentum* à partir du tube digestif de poulet de chair et de porc. Les résultats d'étude de la capacité d'adhésion de ces souches aux cellules épithéliales du poulet de chair et du porc ont montré que certaines de ces souches isolées de poulet de chair ne peuvent adhérer qu'aux cellules épithéliales du poulet de chair contrairement à d'autres souches qui ont montré une capacité d'adhésion aux deux types de cellules épithéliales (du poulet de chair et du porc)

Les souches de *Lactobacillus* à caractère probiotique ont plusieurs mécanismes qui leur permettent d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales. Cette propriété confère un avantage concurrentiel, ce qui est un critère important pour la colonisation du tractus intestinal (**Pinto et al., 2006**).

Plusieurs études ont montré que la composition de la paroi cellulaire peut affecter l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales (**Kim et al., 2007**). La capacité d'adhésion évaluée à l'aide des modèles *in vitro* est différente pour chaque souche. Ceci est probablement lié à la physiologie et aux facteurs d'adhésion tels que les composés protéiques, polysaccharides, charges ioniques et aux acides lipotéichoïques propres à chaque souche bactérienne (**Crociani et al., 1995 ; Lin et al., 2007 ; Ben Salah et al., 2012**).

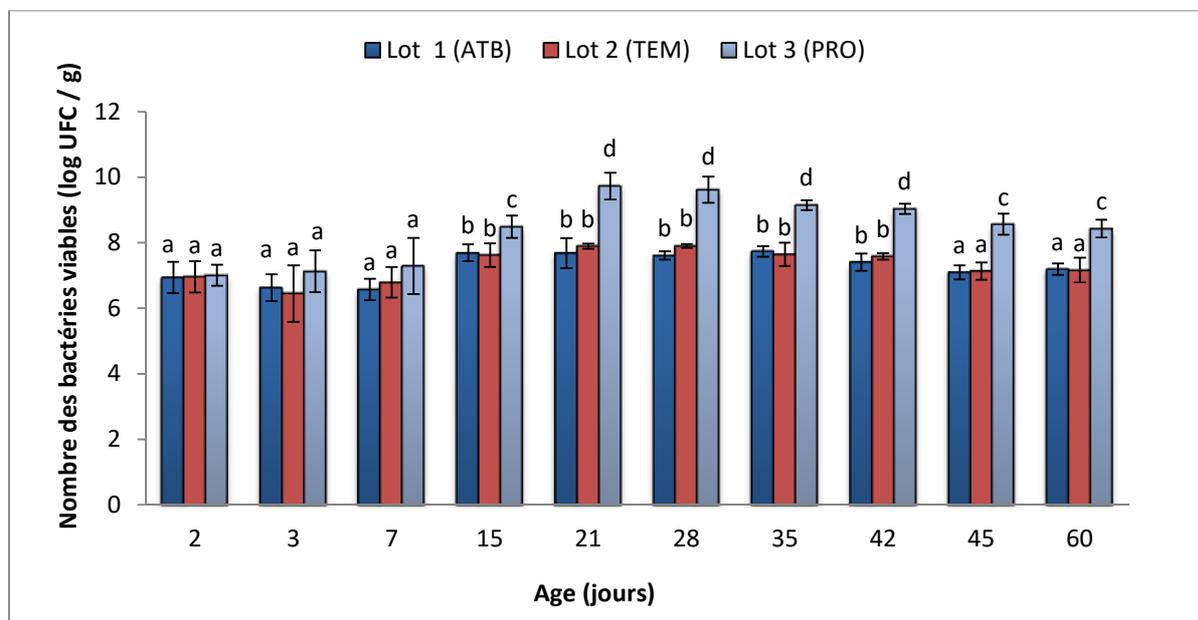
**Hamon et al. (2011)** ont rapporté que plusieurs protéines ont pu être liées à la capacité d'adhésion élevée chez deux souches de *Lb. plantarum* et *Lb. casei*. Dans le même sens, **Bejar et al. (2011)** ont montré la présence de gènes codant pour des facteurs d'adhésion Mub, MapA et EF-Tu chez les deux souches à potentiel probiotique : *Lb. plantarum* TN627 et TN635. Deux facteurs ont été identifiés chez *Lb. salivarius* SMXD51 portant sur les gènes qui codent la protéine liant la fibronectine (FbpA) et le gène codant la protéine d'adhésion au mucus (MapA) (**Messaoudi et al., 2012**). L'adhésion des souches de *Lactobacillus* aux cellules épithéliales peut indiquer l'exclusion compétitive d'autres bactéries pathogènes de la surface de l'épithélium (**Ortu et al., 2007**). Un microorganisme ayant un fort pouvoir d'adhésion pourra éventuellement stimuler le système immunitaire et prévenir l'implantation des agents pathogènes sur les cellules épithéliales intestinales par des mécanismes de compétition (**Saarala et al., 2002**).

## 12. Etude *in vivo*

Cette étude *in vivo* a permis de déduire que l'utilisation de souche probiotique peut avoir des effets positifs sur le poulet de chair. L'influence de l'apport de la souche probiotique sélectionnée *Lb. plantarum* S27 sur les paramètres zootechniques et sanitaires de poulets de chair a été démontrée.

### 12.1. Suivi de l'implantation de la souche *Lb. plantarum* S27

Afin de contrôler la survie de la souche probiotique (S27) dans le tube digestif des poulets dans les trois lots, des dénombrements des lactobacilles ont été effectués. Les résultats (Figure 40) montrent une différence hautement significative ( $P < 0,0001$ ) du nombre de lactobacilles entre les trois lots à partir du 15<sup>ème</sup> jour d'élevage. Rappelons que la souche a été administrée à partir du 3<sup>ème</sup> jour d'arrivée des poussins d'un jour.



**Figure 40.** Dénombrement des lactobacilles à partir des fientes des poussins/poulets des trois lots. ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique.

En comparaison avec les deux lots « lot 1(ATB) et lot 2 (TEM) », le nombre de lactobacilles dans les fientes de poulets du lot traité avec la souche probiotique a été plus élevé ( $P < 0,0001$ ) que celui obtenu des deux autres lots (traités aux antibiotiques et témoin).

Le nombre de lactobacilles dans le lot 3 (PRO) a connu une augmentation jusqu'au 28<sup>ème</sup> jour d'élevage, cette augmentation serait probablement due à l'administration de la souche probiotique durant les 4 premières semaines d'élevage.

Après arrêt de l'administration de la souche probiotique (au 31<sup>ème</sup> jour), le nombre de lactobacilles a diminué mais le nombre est resté supérieur à celui récupéré des deux autres

lots, ceci pourrait témoigner de l'installation de la souche de *Lactobacillus* dans le tube digestif des poulets.

**Jin et al. (1998)** ont montré un nombre significativement élevé en lactobacilles dans le ceacum et l'intestin grêle à l'âge de 10 jours chez les poulets traités avec un probiotique contrairement au témoin. De même, **Zarei et al. (2018)** ont montré que l'administration d'un aliment probiotique à base de trois souches de *Lactobacillus*, d'une souche de *Bifidobacterium* et une souche d'*Enterococcus* induit un nombre plus élevé de lactobacilles chez les poulets du groupe probiotique par rapport au groupe témoin.

## 12.2. Effet de *Lb. plantarum* S27 sur l'état sanitaire des poulets

### 12.2.1. La mortalité

L'état de santé des poulets a été évalué dès l'arrivée des poussins jusqu'à la fin de l'élevage. Le tableau XVI montre le nombre de sujets sains et morts au cours de l'expérimentation et les causes des décès déterminées par un vétérinaire après autopsie.

Il apparaît que l'utilisation du probiotique n'affecte pas la mortalité au cours de l'élevage entre les trois lots, elle est considérée identique. Cependant, un élevage plus important pourrait révéler de meilleures différences entre les trois lots.

**Tableau XVI.** Taux de mortalité des poussins dans les trois lots (ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique) au cours de l'étude *in vivo*.

Début de l'étude	Lot 1(ATB)	Lot 2 (TEM)	Lot 3 (PRO)
	20 sujets	20 sujets	20 sujets
Au cours de l'étude	-13 sujets sains -5 morts : colibacillose -1 mort : cause indéterminée -1 mort : insuffisance hépatique	-08 sujets sains -11 morts : colibacillose -1 mort : insuffisances hépatique et cardiaque	-11 sujets sains -08 morts : colibacillose -1 mort : cause indéterminée
Fin de l'étude	13 sujets	08 sujets	11 sujets

La mortalité est apparue au 5<sup>ème</sup> jour d'élevage dans le lot 1 (ATB) et des symptômes de maladies intestinales ont été également apparus dans les trois lots (entérites aiguës). Le nombre de poussins malades augmentait jusqu'au 16<sup>ème</sup> jour d'élevage où la maladie s'est

stabilisée. Il s'agit d'une colibacillose, qui est sans doute l'infection bactérienne la plus fréquente et la plus importante en pathologie aviaire suite à une infection à *E. coli* (**Guérin et Balloy, 2012**). La souche d'*E. coli* (*E. coli* SL-2006) a bien été isolée, identifiée et incluse dans le test de l'activité antibactérienne de la souche probiotique.

C'est durant la phase de démarrage (du 8<sup>ème</sup> jour au 16<sup>ème</sup> jour) que le taux de mortalité a été le plus élevé au niveau des 3 lots, ceci pourrait être expliqué par la contamination fécale des œufs car la flore qui s'y installe dépend de l'environnement de l'éclosion de l'œuf mais elle pourrait également provenir des conditions de manipulation des poussins au cours de leur installation (**Gabriel et al., 2003**).

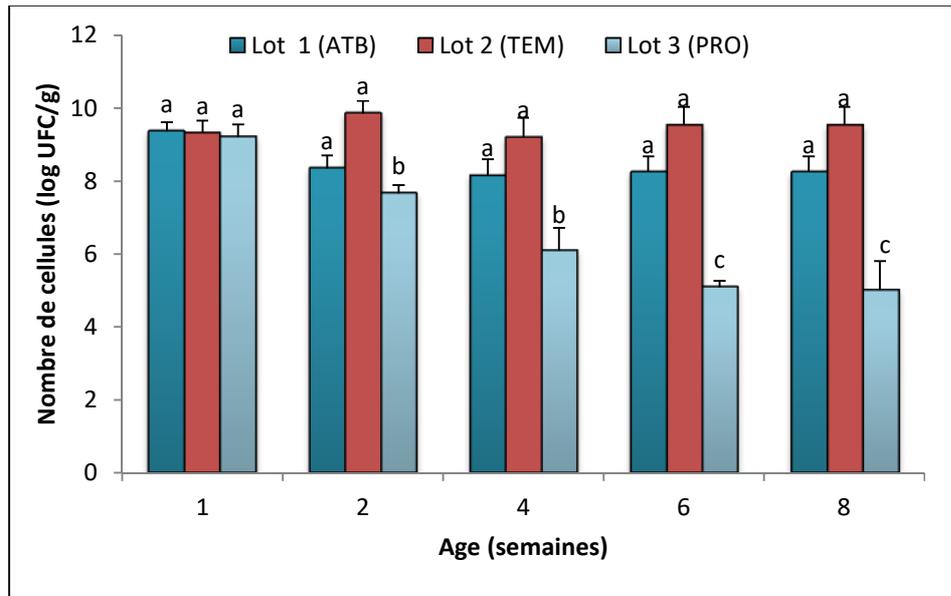
Dans l'étude de **Capcarova et al. (2011)**, un mélange de bactéries probiotiques a été utilisé dans une étude *in vivo* sur le poulet de chair pour évaluer son effet sur plusieurs paramètres, les résultats ont montré que l'utilisation de ce mélange de probiotiques a un effet positif sur la prévention de la mortalité.

### **12.2.2. Incidence sur le taux des entérobactéries**

Pour évaluer l'effet antimicrobien de la souche probiotique sur le microbiote intestinal des poulets, un dénombrement des entérobactéries à partir des fientes des trois lots a été effectué. Les résultats des dénombrements sont montrés sur la figure 41.

Au 2<sup>ème</sup> jour d'élevage, le nombre d'entérobactéries a été très important dans la flore des poussins, ceci serait probablement lié à l'installation de cette flore environnementale dès l'éclosion. Il est bien admis que les coliformes, les streptocoques et les clostridies colonisent rapidement l'intestin des volailles, dès le premier jour d'éclosion (**Fuller, 1984**).

Les résultats du dénombrement ont montré une diminution importante du nombre d'entérobactéries pour les trois lots à la fin de la phase de démarrage avec un nombre moins important chez le lot 3 (PRO) que chez les deux autres lots (ATB et TEM) mais aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) n'a été observée entre les trois lots. Par ailleurs, la charge de cette flore augmente chez les trois lots durant les deux phases d'élevage : croissance et finition, mais elle reste légèrement inférieure chez le lot 3 (PRO). Les résultats des dénombrements semblent être similaires au niveau des trois lots et aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) n'a été observée durant les phases de croissance et de finition.



**Figure 41.** Dénombrement des entérobactéries à partir des fientes de poulets des trois lots.

ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique.

**Wielen et al. (2000)** ont rapporté que les lactobacilles diminuent le pH dans le tube digestif des poulets par la production d'acides organiques en conduisant à un effet bactéricide et limitant la croissance des bactéries néfastes. Dans une autre étude menée sur les lactobacilles, *Lb. acidophilus* a créé un environnement intestinal à pH faible, inhibant ainsi la croissance des bactéries pathogènes et des levures (**Jin et al., 1996**).

Cependant, de nombreuses études ont mis en évidence que les probiotiques ont un effet sur la modulation de la microflore intestinale et l'inhibition de certains agents pathogènes en occupant l'espace de la muqueuse intestinale (**Fuller, 1997 ; Mountzouris et al., 2007 ; Higgins et al., 2007**). D'après les résultats des dénombrements obtenus, la flore s'est stabilisée à partir de la phase de croissance. Des études ont montré qu'il faut 2 à 4 semaines pour que la flore microbienne se stabilise chez le poulet (**Amit-Romach, Sklan et Uni, 2004 ; Lee et al., 2010**).

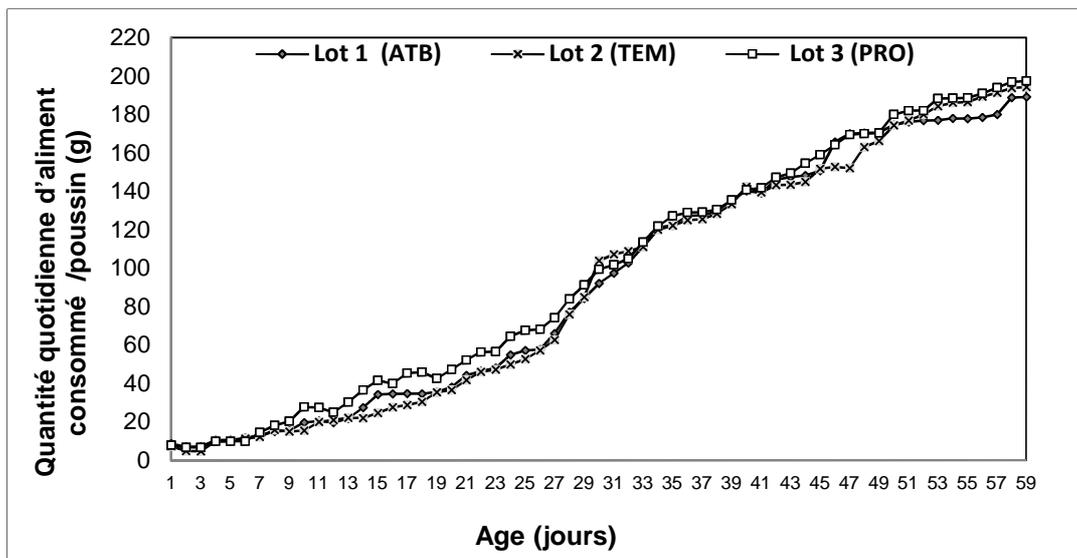
**Jin et al. (1998)** ont rapporté que le nombre des coliformes a significativement diminué, à l'âge de 20 et de 30 jours, dans le caecum de poulets traités avec une formule probiotique (*Lb. acidophilus*, *Lb. fermentum*, *Lb. crispatus* et *Lb. brevis*) contrairement aux poulets témoins non traités. De même, l'étude réalisée par **Zarei et al. (2018)** a montré que le nombre d'*E. coli* a diminué dans le groupe traité par une formule probiotique.

### 12.3. Etude des performances zootechniques du poulet

#### 12.3.1. Consommation alimentaire

L'évolution des quantités quotidiennes d'aliments consommées tout au long de la période d'élevage par les poulets des trois lots est présentée dans la figure 42.

Les quantités moyennes consommées sont marquées par des valeurs croissantes durant toutes les phases d'élevage. Aucune différence significative ( $P>0,05$ ) n'a été relevée entre les trois lots (Figure 42).



**Figure 42.** Quantité moyenne quotidienne d'aliments consommée / poussin ou poulet (g).

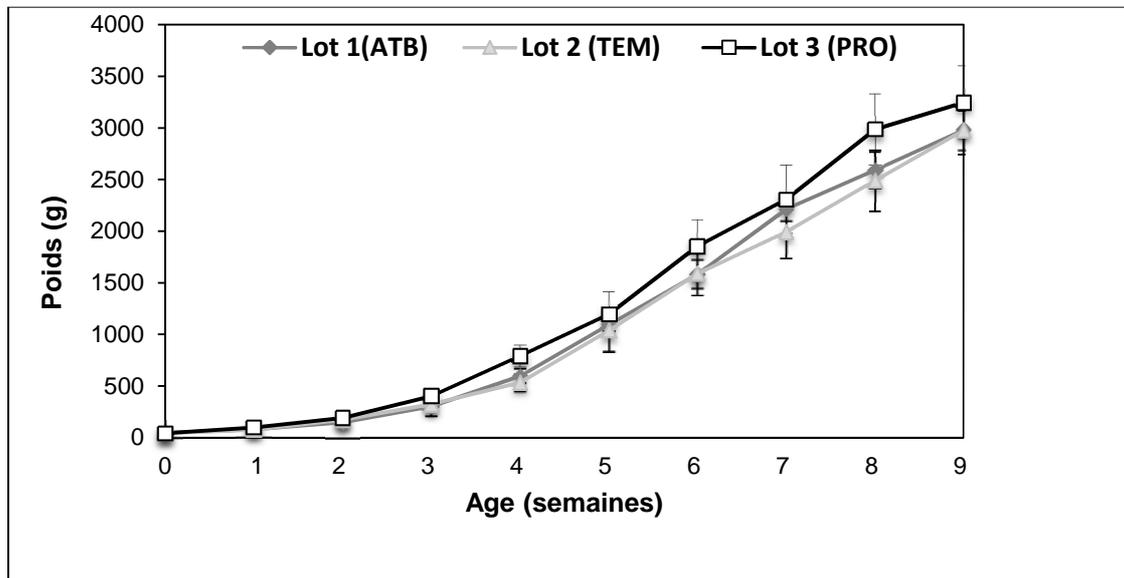
ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique

Plusieurs études ont montré que certaines bactéries probiotiques ne possèdent aucun effet bénéfique sur l'amélioration de la consommation d'aliments chez la volaille.

**Mountzouris et al. (2006)** ont rapporté dans leur étude, réalisée sur des poussins, qu'une formulation probiotique composée de souches de *Bifidobacterium*, *Enterococcus* et de *Pediococcus* n'a aucun effet bénéfique sur la quantité d'aliments consommée. De même, l'étude réalisée par **Giannenas et al. (2012)** a montré qu'aucune différence n'a été observée entre les groupes en termes de consommation alimentaire durant toute la période d'étude. Par contre **Celik et al. (2001)** ont démontré que l'utilisation d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* comme additif alimentaire chez les poussins d'un jour a significativement augmenté la quantité d'aliments consommée au 37<sup>ème</sup> jour d'élevage.

### 12.3.2. Evolution pondérale et gain moyen quotidien

La croissance des poussins des trois lots a été évaluée toutes les semaines durant la période d'élevage, les poids moyens des poulets sont présentés dans la figure 43.



**Figure 43.** Evolution hebdomadaire du poids vif (g) des poussins ou poulets des trois lots.

ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique

Des différences de poids vifs ont nettement été observées, les poulets du lot test (lot 3) présentent un gain de poids plus élevé que celui des deux autres lots (témoin et recevant des antibiotiques). Les poids moyens obtenus à la fin d'élevage (après 60 jours) ont été respectivement de  $3246 \pm 356,99$  g chez les poulets du lot test (lot 3),  $2977 \pm 234,45$  g chez ceux du lot 2 (TEM) et  $2978 \pm 194,46$  g chez ceux du lot 1 (ATB).

Il faut noter que l'addition de la souche probiotique a un effet bénéfique sur la croissance des poulets, ceci s'est traduit à la 4<sup>ème</sup> semaine et à la 8<sup>ème</sup> semaine par des poids significativement supérieurs ( $P < 0,05$ ) par rapport aux poids enregistrés chez les poulets des deux autres lots. Cette période de latence observée pour avoir un effet significatif pourrait s'expliquer par le temps nécessaire à la souche pour s'installer et de se maintenir au niveau du tube digestif de l'animal.

Ces résultats sont en accord avec plusieurs rapports démontrant que l'ajout de souches probiotiques aux poulets améliore leur poids vif. **Zacconi et al. (1999)** ont montré qu'une souche de *Lb. salivarius* utilisée comme probiotique a pu améliorer la croissance des poussins auxquels elle a été administrée. **Kabir et al. (2004)** ont observé une amélioration du poids vif des poussins ( $P < 0,01$ ) suite à l'administration d'une souche de lactobacilles à partir de la 2<sup>ème</sup> semaine. De même, **Mountzouris et al. (2007)** ont constaté que l'administration à des poulets

de chair d'une formulation probiotique contenant des souches de *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* dans l'alimentation et dans l'eau affiche un effet favorisant leur croissance. Une alimentation supplémentée par *Lb. reuteri* Pg4 engendre une amélioration de poids de 1832 à 1857 g entre 0 et 37 jours d'élevage (Yu et al., 2008).

Capcarova et al. (2011), en utilisant un mélange de six souches probiotiques (appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Enterococcus*), ont montré une amélioration du poids et une différence significative entre les deux groupes (témoin et expérimental) entre le 35<sup>ème</sup> et le 40<sup>ème</sup> jour. L'étude réalisée par Giannenas et al. (2012) a montré une différence du poids entre les poulets des groupes probiotiques (à différentes doses en *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* et un mélange probiotique) et les deux groupes témoins (infecté par *Eimeria tenella* et non infecté).

L'amélioration de la croissance de la volaille par les probiotiques est induite par les effets du probiotique, y compris le maintien de la stabilité de la microflore intestinale, une augmentation de l'activité des enzymes digestives et une diminution de la production d'ammoniac (Santoso et al., 1995 ; Cavazzoni et al., 1998).

Les gains moyens quotidiens de poids des poussins ont également été calculés toutes les semaines, les résultats montrent des variations significatives ( $P < 0,05$ ) du gain moyen quotidien de poids tout au long de la période d'élevage (tableau XVII). Les gains moyens quotidiens de poids montrent des valeurs croissantes durant les deux premières phases d'élevage (démarrage et croissance). La phase de finition a été marquée par une diminution des gains du poids, celle-ci correspond à la phase de stabilité pondérale d'un poulet normalement constitué.

**Tableau XVII.** Gain pondéral moyen quotidien des poussins des trois lots (ATB : antibiotique, TEM : témoin, PRO : probiotique)

Age (jours)	Gain moyen quotidien (g/jour)		
	Lot 1 (ATB)	Lot 2 (TEM)	Lot 3 (PRO)
7	04,85	04,80	08,00
14	09,80	13,77	13,11
21	21,74	21,42	30,00
28	42,25	30,02	55,77
35	71,22	72,14	57,85
42	69,54	78,57	94,28
49	89,94	57,85	64,85
56	54,28	71,00	96,42
60	55,22	69,42	37,28

**Edens (2003)** a rapporté qu'une souche probiotique de *Bacillus subtilis* n'a pas affecté le gain de poids des poulets auquel elle a été administrée. De même, l'étude menée par **Opalinski et al. (2007)** n'a montré aucune différence de gain de poids entre les poulets de chair nourris avec une autre souche appartenant à la même espèce et ceux supplémentés avec l'antibiotique « avilamycine » ( $P>0,05$ ).

Cependant, **Khaksefid et Ghoorchi (2006)** ont montré que le gain de poids corporel de la volaille nourrie avec un aliment supplémenté avec 50 mg/kg d'une formulation probiotique contenant *Bacillus subtilis* a été plus élevé que la volaille du groupe témoin. De même, **Liu et al. (2007)** ont rapporté que la supplémentation d'un aliment à base de blé avec *Lb. reuteri* Pg 4 a augmenté le gain de poids des poulets de chair qui l'ont consommé.

### 12.3.3. Rendement en carcasses

Le poids moyen vif des poulets après abatage, celui des carcasses après déplumage et après éviscération et le poids des abats ont été déterminés. Les résultats obtenus sont portés dans le tableau XVIII.

**Tableau XVIII.** Effet de la souche probiotique *Lactobacillus* S27 sur le poids des carcasses et des abats.

Poids (g)	Lot 1(ATB)	Lot 2 (TEM)	Lot 3 (PRO)
<b>Poids vif</b>	2978,60±194,46	2977,00±234,45	3246,00±356,99
<b>Carcasse après déplumage</b>	2636,66±173,51	2683,33±137,68	3001,66±256,04
<b>Carcasse après éviscération</b>	2305,00±146,03	2298,33±108,66	2640,00±236,59
<b>Foie</b>	59,33±9,23	67,00±6,55	61,33±2,51
<b>Cœur</b>	14,00±2,00	14,33±1,52	16,33±1,52
<b>Gésier</b>	34,66±2,51	35,33±6,50	38,66±5,68
<b>Rate</b>	2,33±0,57	3,33±0,28	3,00±0,50

Quoique les poids des carcasses, du cœur et du gésier sont supérieurs chez les poulets du lot 3 (PRO), aucune différence significative n'a été notée ( $P>0,05$ ).

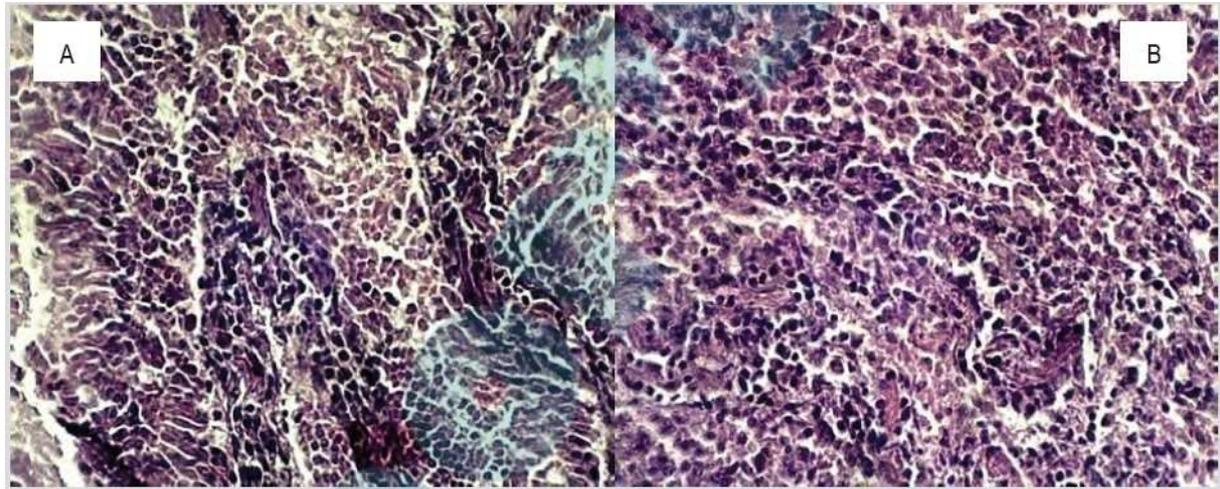
Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Pedroso et al. (2003)** en incorporant une souche de *Lactobacillus* associée avec une souche de *Bacillus subtilis* dans l'aliment de la volaille, aucune différence significative ( $P>0,05$ ) n'a été observée en termes de poids de la carcasse, du cœur, foie, gésier et des intestins.

Par contre, **Mahajan et al. (1999)** ont enregistré dans leur étude que les valeurs moyennes du poids des abats, celui des carcasses chaudes et des carcasses froides étaient significativement ( $P<0,05$ ) plus élevées chez le poulet de chair nourris avec la formulation probiotique lacto-SACC par rapport aux poulets témoins. De même, **Kabir et al. (2004)** ont rapporté que le rendement en carcasse était plus élevé ( $P<0,05$ ) chez les poulets nourris avec les souches de lactobacilles à la 2<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et à la 6<sup>ème</sup> semaine d'élevage.

#### 12.4. Modifications morphologiques des segments intestinaux

Afin d'évaluer l'effet de la souche probiotique sur la morphologie intestinale des poulets, une étude histologique des segments d'intestins des poulets au niveau du duodénum, du jéjunum et de l'iléon a été réalisée. Les résultats obtenus après observation microscopique

des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline-éosine ne montrent aucune différence au niveau des différents segments intestinaux des poulets des trois lots, ce qui confirme sa non-toxicité (Figure 44).



**Figure 44.** Coupes transversales réalisées au niveau du duodénum des poulets du lot témoin « TEM » (A) et du lot test « PRO » (B).

L'ajout du probiotique n'a entraîné aucun effet observable, que se soit l'apparition de lésions ou de modifications de la morphologie des segments de l'intestin (duodénum, jéjunum et l'iléon) chez les poulets de chair. La hauteur, la largeur et la surface des villosités et des cryptes sont demeurées inchangées.

**Chichowski et al. (2007)** ont observé que l'addition d'une formulation probiotique contenant des lactobacilles à l'aliment de poulets de chair a augmenté la hauteur des villosités jéjunales. De même, **Awad et al. (2010)** rapportent dans une autre étude sur l'effet de l'addition de souches probiotiques de *Lb. salivarius* et *Lb. reuteri* à l'aliment de poulets de chair que la profondeur des cryptes duodénales a demeuré inchangée ( $P > 0,05$ ). Par contre, la profondeur des cryptes iléales a été diminuée chez les poulets ayant consommés l'aliment supplémenté avec les souches probiotiques par rapport à celles des poulets du lot témoin.

La hauteur des villosités du duodénum et de l'iléon chez les poulets ayant reçu un aliment supplémenté avec une formulation probiotique, à base de *Lb. acidophilus*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae*, a été démontrée supérieure à celle des poulets du lot témoin (**Kim et al., 2012**). **Giannenas et al. (2012)** ont rapporté une hauteur plus importante des villosités de l'iléon dans les groupes probiotiques contrairement aux groupes témoins avec un résultat meilleur dans le groupe traité par *Bifidobacterium* et le groupe traité par *Lactobacillus* par rapport au groupe traité par *Enterococcus*. Dans une étude similaire, **Zarei et al. (2018)** ont montré une hauteur de villosité plus grande chez les poulets traités par un

probiotique à base des espèces appartenant aux lactobacilles, bifidobactéries et entérocoques. Par ailleurs, dans une autre étude, les changements dans la morphologie intestinale tels que le raccourcissement des villosités et la réduction de la profondeur des cryptes ont été associés à la présence de toxines (**Yason et al., 1987**).

# **Conclusion**

## Conclusion et perspectives

La microflore intestinale, chez l'animal, joue un rôle important dans le maintien de sa santé et de ses performances zootechniques, et ceci à travers la protection contre les différentes infections et l'utilisation efficace des nutriments. De ce fait, la sélection de souches bénéfiques originaires du tube digestif de poulet est une stratégie permettant leur utilisation comme probiotiques à visée préventive ou thérapeutique. Cette stratégie est une alternative prometteuse à l'usage abusif des antibiotiques en élevage. Cet usage a entraîné une augmentation des risques d'antibiorésistance et d'hypersensibilité chez l'Homme.

C'est dans ce contexte que notre étude a été réalisée dans le but de sélectionner une souche de lactobacilles ou de pediococques probiotique et son application chez le poulet de chair.

Notre étude a débuté par une enquête réalisée au niveau de certains poulaillers des wilayas de Bejaia et de Bouira, à travers laquelle des informations sur les conditions d'élevage ont été rassemblées. Les résultats obtenus nous ont permis de faire ressortir les conclusions suivantes : La majorité des éleveurs utilisent la méthode traditionnelle d'élevage, directement au sol, les souches de poulet de chair les plus utilisées au niveau des wilayas de Béjaia et de Bouira sont Isabrown 15 et la Cob respectivement, certains poulaillers affichent un manque d'hygiène et utilisent des antibiotiques à titre préventif.

A la suite des analyses microbiologiques réalisées sur les échantillons de fientes collectés, une richesse de la microflore intestinale de poulet en lactobacilles a été constatée aussi bien en phase de démarrage (5 jours,  $\approx 10^9$  UFC/g) qu'en phase de croissance (30 jours,  $\approx 10^9$  UFC/g). D'un autre côté, le nombre de levures à la phase de démarrage (5 jours) se situe entre  $10^5$  et  $10^6$  UFC/g et en phase de croissance (30 jours), il varie entre  $10^6$  à  $10^8$  UFC/g au niveau des poulaillers des deux wilayas.

La recherche d'*E. coli* a montré sa présence dans tous les échantillons de fientes des poulaillers des deux wilayas et elle a été isolée chez tous les individus testés. *E. coli* qui est habituellement présente dans le tube digestif du poulet peut dans certaines conditions de stress, mauvaise hygiène et antibiothérapie anarchique exprimer des facteurs de virulence (« Avian Pathogenic *E. coli* » ou APEC) et provoquer une infection respiratoire mortelle « la colibacillose ».

L'efficacité des probiotiques en alimentation animale se manifeste sur le plan sanitaire: les lactobacilles et les pédiocoques exercent des activités antibactériennes contre diverses bactéries pathogènes et notamment contre les microorganismes fréquemment responsables d'infections chez le poulet dont *Salmonella* sp. et *E. coli*. Les résultats du test d'antagonisme vis-à-vis de certaines souches de référence (*E. coli*, *Salmonella enterica* et *S. aureus*) et de souches d'*E. coli*, isolées des poulaillers, montrent une très bonne activité antibactérienne avec des diamètres allant de 10 à 23 mm pour les souches de *Pediococcus* et une faible (0 à 9 mm) à très bonne activité (10 à 24,33 mm) pour les souches de *Lactobacillus*.

Les souches de *Lactobacillus* et de *Pediococcus* ont montré leur résistance à la bile (0,1% ; 0,3% et 0,5%) et à l'acidité (pH 2 ; 2,5 et 3) et une absence de toute activité hémolytique. La sélection de la souche probiotique, la plus performante, a été basée sur l'absence de l'activité hémolytique et sa forte résistance à l'acidité et à la bile.

Afin de confirmer la performance de la souche sélectionnée (*Lactobacillus plantarum* S 27), son effet préventif a été testé dans une étude *in vivo* menée chez des poussins de 4 jours. Des améliorations en termes de viabilité des poussins, de gain de poids et d'indice de consommation des aliments ont ainsi été observées suite à son utilisation pendant les 4 premières semaines d'élevage. L'effet bénéfique a été démontré par une réduction du taux de mortalité et une augmentation du poids des poulets durant les deux phases de croissance (croissance et finition) ( $3246 \pm 356,99$  g) par rapport à des poussins témoins ne recevant aucun traitement ( $2977 \pm 234,45$  g) et des poussins recevant un traitement préventif à base d'érythromycine ( $2978,6 \pm 194,45$  g).

Dans cette étude, il nous a été possible de confirmer l'hypothèse selon laquelle l'administration de souches probiotiques peut s'avérer une solution efficace et avantageuse dans le contrôle de la croissance des bactéries pathogènes d'espèces aviaires. Des souches probiotiques soigneusement sélectionnées (telle que *Lactobacillus plantarum* S27) peuvent être utilisées comme agents protecteurs et promoteurs de croissance, et ainsi remplacer les antibiotiques appliqués en aviculture.

De plus, les souches probiotiques ont été rapportées capables d'améliorer la salubrité, et la qualité de la viande de poulet. Ce volet n'a pas été évalué dans cette étude et constituerait une suite de ce travail. De plus, dans le but de mettre sur le marché et à la disposition des éleveurs cette souche probiotique, son incorporation dans un aliment destiné au poulet de

chair est indispensable. De ce fait, cette étape représente la deuxième perspective de ce travail de thèse. Enfin, d'autres souches parmi la collection des souches confectionnées feront l'objet d'investigation, en particulier les souches de *Pediococcus*. Nous tenons à signaler que ces perspectives sont d'ors et déjà explorées et étudiées dans le cadre d'un projet de coopération bilatéral Algéro-Tunisien.

# **Références bibliographiques**

A

**Abbasiliasi S., Shun T J., Bashokouh F., Shuhaimi M., Vakhshiteh F., Sivasambo S., Ariff A., 2017.** *In vitro* assessment of *Pediococcus acidilactici* Kp for its potential use in the food industry. *BMC Microbiology* 17 (121): 1-11

**Abbasiliasi S., Tan J S., Tengku Ibrahim T A., Ramanan R N., Vakhshiteh F., Mustafa S., Ling T C., Rahim R A., Ariff A B., 2012.** Isolation of *Pediococcus acidilactici* Kp10 with ability to secrete bacteriocin-like inhibitory substance from milk products for applications in food industry. *BMC Microbiology* 12 (260): 1-12.

**Albazaz R I., Büyükkunal Bal E B., 2014.** Microflora of digestive tract in poultry. *Journal of National Sciences* 17(1): 39-42.

**Amit-Romach E., Sklan D., Uni Z., 2004.** Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *Poultry Science* 83:1093–1098.

**Andrieu V., 1995.** Intérêt des probiotiques dans le gavage du canard, application à la région des landes. Thèse Docteur vétérinaire. Faculté de médecine de Nantes (France).

**Annika M., Manninan M., Gylienbergh H., 1983.** The adherence of lactic acid bacteria to the columnar epithelial cells of pigs and calves. *Journal of Applied Bacteriology* 55: 241-245.

**ANSEJ, 2010.** Aviculture- élevage de poulet de chair. Fiche technique. 8 p.

**Apajalahtii J., Kettunen A., Graham H., 2004.** Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poultry Science Journal* 60: 223-232.

**Argyri A A., Zoumpopoulou G., Karatzas K-A G., Tsakalidou E., Nychas G-J E., Panagou E Z., Tassou C T., 2013.** Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by *in vitro* tests. *Food Microbiology* 33: 282-291.

**Asghar S., Arif M., Nawaz M., Muhammad K., Ali M A., Ahmad M D., Iqbal S., Anjum A A., Khan M., Nazir J., 2016.** Selection, characterization and evaluation of potential probiotic *Lactobacillus spp.* Isolated from poultry droppings. *Beneficial Microbes* 7(1): 35-44.

**Awad W A., Ghareeb K., Böhm J., 2010.** Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diet on intestinal mucosal architecture and electrophysiological parameters. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94: 486-494.

B

**Bejar W., Farhat-Khemakhem A., Smaoui S., Makni M., Ben Farhat M., Abdelmalek B., Mellouli L., Maguin E., Bejar S., Chouayekh H., 2011.** Selection of *Lactobacillus plantarum* TN627 as a new probiotic candidate based on *in vitro* functional properties. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 16: 1115-1123.

**Ben Abdallah N., 2010.** Isolement et caractérisation de bactéries à fort potentiel probiotique à partir du tractus gastro-intestinal de volaille. Mémoire pour l'obtention du diplôme de maître des Sciences. Faculté des Etudes Supérieures de l'Université Laval (Canada). 99 p.

**Ben Salah R., Trabelsi I., Ben Mansour R., Lassoued S., Chouayekh H., Bejar S., 2012.** A new *Lactobacillus plantarum* strain, TN8, from the gastro intestinal tract of poultry induces high cytokine production. *Anaerobe* 18: 436-444.

**Bernardeau M., Vernoux J P., 2009.** Utilisation des probiotiques en alimentation porcine et avicole. 9<sup>ème</sup> Journée Production porcines et avicoles. 2009, France. pp : 62-71.

**Bezkorovany A., 2001.** Probiotics determinants of survival and growth in the gut. *American Journal of Clinical Nutrition* 73(2): 399-405.

**Bonou C H., 1987.** L'appareil digestif de la poule: histologie normale et histologie pathologique dans la maladie de Newcastle. Thèse de doctorat pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Ecole inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar. Université Cheikh Anta Diop (Sénégal), 133p.

## C

**Capcarova M., Hascik P., Kolesarova A., Kacaniova M., Mihok M., Pal G., 2011.** The effect of selected microbial strains on internal milieu of broiler chickens after peroral administration. *Research in Veterinary Science* 91: 132–137.

**Casas I A., 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.

**Castagnos S., 2003.** Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (Aviguard ©) contre les salmonelles sur des poulets Labels du sud-Ouest. Thèse de Docteur Vétérinaire. Université Paul- Sabatier, Toulouse (France), 79 p.

**Cavazzoni V., Adami A., Cstrivilli C., 1998.** Performance of broiler chickens supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. *British Journal of Poultry Science* 39: 526-529.

**Celik K., Denli M., Oztürkcan O., 2001.** The effects of *Saccharomyces cerevisiae* and flavomycin on broiler growth performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4 (11), 1415-1417.

**Chambers J R., Gong J., 2011.** The intestinal microbiota and its modulation for *Salmonella* control in chickens. *Food Research International* 44: 3149–3159.

**Chaucheyras-Durand F., Durand H., 2010.** Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes* 1(1): 3-9.

**Chen F., Zhu L., Qiu H., 2017.** Isolation and probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* and *Pediococcus pentosaceus* in specific pathogen free chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science* 19: 325-332.

**Chichowski M., Croom W J., Edens F W., Mac Bride B W., Qiu R., Chiang C C., Daniel L R., Havenstein G B., Koci M D., 2007.** Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, PrimaLac, and Salinomycin. *Poultry Science* 86: 1121-1132.

**Chouder N., 2006.** Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. Thèse pour l'obtention de diplôme de Magister en médecine vétérinaire, option : pathologie, spécialité : aviculture et pathologie aviaire. Université Mentouri de Constantine (Algérie), 190p.

**Clench M H., Mathias J R., 1995.** The avian cecum: a review. *The Wilson Bulletin* 107(1): 93-121.

**Crociani J., Grill J P., Huppert M., Ballongue J., 1995.** Adhesion of different bifidobacteria strains to human enterocyte-like Caco-2 cells and comparison with *in vivo* study. *Letters in Applied Microbiology* 21: 146-148.

## D

**Delarras C., 2014.** Pratique en microbiologie de laboratoire, Recherche de bactéries et de levures- moisissures. Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 772 P.

**Delteil L., 2012.** Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. 3<sup>ème</sup> édition. Dijon : educagri éditions, 1. pp : 86-87.

**Duffy L L., Dykes G A., Fegan N., 2012.** A review of the ecology, colonization and genetic characterization of *Salmonella enterica* serovar Sofia, a prolific but avirulent poultry serovar in Australia. *Food Research International* 45: 770–779.

## E

**Edens F W., 2003.** An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. *Brazilian Journal of Poultry Science* 5 (2): 75-97.

**EFSA, 2012.** Scientific opinion on the safety and efficacy of *Pediococcus acidilactici* (CNCM I-3237, CNCM MA 18/5M- DSM 11673) and *Pediococcus pentosaceus* (DSM 23376, NCIMB 12455, NCIMB 30237 and NCIMB 30168) as silage additives for all species. EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed. *EFSA Journal* 10 (6): 2733. 15 p.

**Esther Izquierde A., 2009.** Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Thèse de Doctorat en chimie analytique, Université de Strasbourg (France), p18.

**Ezema C., 2013.** Probiotics in animal production: A review. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* 5(11): 308-316.

**F**

**Feng J., Wang L., Zhou L., Yang X., Zhao X., 2016.** Using *in vitro* immunomodulatory properties of lactic acid bacteria for selection of probiotics against *Salmonella* infection in broiler Chicks. *Plos One* 11 (1): 1-14.

**Ferrando R., 1979.** Les additifs en nutrition animale. Effets sur l'Homme, les animaux et l'environnement. *Livestock Production Science* 6: 67-92

**Fuller R., 1984.** Microbial activity in the alimentary tract of birds. *Proceedings of the Nutrition Society* 43: 55-61.

**Fuller R., 1992.** The effect of probiotics on the gut micro-ecology of farm animals; In: The Lactic Acid Bacteria. Volume1. Eds. B. J. B. Wood. Elsevier Science Publishers. pp: 171-172

**Fuller R., 1997.** Probiotic 2: application and practical aspects. First edition. Springer Science and Business Media. 1-8

**Fuller R.,1991.** Probiotics in human medicine. *Gut* 32(4): 439.

**Furuse M., Okumura J., 1994.** Nutritional and physiological characteristics in germ-free chickens. *Composy Biochemistry and Physiology* 109 (3): 547-556.

**G**

**Gabriel I., Lessire M., Mallet S., Guillot J F., 2006.** Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. *World's Poultry Science Journal* 62: 499-511.

**Gabriel I., Mallet S., Leconte M., Travel A., Lalles J P., 2008.** Effects of whole wheat feeding on the development of the digestive tract of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 142: 144–162.

**Gabriel I., Mallet S., Lessire M., 2003.** La microflore digestive : une composante oubliée de la nutrition des volailles. *Proceedings des Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole*, France. Mars 2003. 8 p.

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

**Gaggia F., Mattarelli P., Biavati B., 2010.** Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology* 141: S15–S28.

**García-Hernández Y., Perez Sanchez T., Boucourt R., Balcazar J L., Nicoli J., Saliva J M., Rodriguez Z., Negro H F., Nunez O., Albelo N., Halaihel N., 2016.** Isolation, characterization and evaluation of probiotic lactic acid bacteria for potential use in animal production. *Research in Veterinary Science* 108: 1010-1016

- García-Hernández Y., Rodriguez Z., Brandao L R., Rosa C A., Nicoli J R., Iglesias A E., Perez-Sanchez T., Salabarría R B., Halaihel N., 2012.** Identification and *in vitro* screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in Veterinary Science* 93: 798-802.
- Ghadban G S., 2002.** Probiotics in broiler production. *Revue Archiv fur Geflügelkunde* 66 (2): 49-58.
- Ghraiiri T., Frere J., Berjeaud J M., Manai M., 2008.** Purification and characterization of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese. *Food Control* 19: 162-169.
- Giannenas I., Tontis D., Tsalie E., Chronis E F., Doukas D., Kyriazakis I., 2010.** Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. *Research in Veterinary Science* 89: 78-84.
- Giannenas I., Papadopoulos E., Tsalie E., Triantafyllou E., Henikle S., Teichmann K., Tontis D., 2012.** Assessment of dietary supplementation with probiotics on performance, intestinal morphology and microflora of chickens infected with *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology* 188: 31-40.
- Glisson J R., 1998.** Bacterial respiratory diseases of poultry. *Poultry Science* 77: 1139-1142.
- Grajek W., Olejnik A., Sip A., 2005.** Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *ACTA Biochimica Polonica* (52) 3: 665-671.
- Guérin J L., Balloy D., 2012.** Maladies des volailles. Ed III, Paris (France). [www.avicampus.fr](http://www.avicampus.fr)
- Gupta A., Sharma N., 2015.** Assessment of cell surface properties and adhesion potential of lactic acid bacteria isolated from Lasoda bari-A rare fermented food of Himachal Pradesh (India). *European Journal of Biotechnology and Bioscience* 3: 9-15.

## H

- Hamon E., Horvatovich P., Izquierdo E., Bringel F., Marchioni E., Aoudé-Werner D., Ennahar S., 2011.** Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. *BMC Microbiology* 11 (1): 1-11
- Higgins J P., Higgins S E., Vicente J L., Wolfenden A D., Teller G., Hargis B M., 2007.** Temporal effects of lactic acid bacteria probiotic culture on *Salmonella* in neonatal broilers. *Poultry Science* 86 : 1662-1666.
- Humbert F., Salvat G., 1997.** Risques de transmission des salmonelles en aviculture : détection et prévention en Europe. *Review of Science and Technology of the Office International of Epizootics* 16 (1): 83-90.

## J

**Jin L Z., Ho Y W., Abdullah N., Jalaludin S., 1998.** Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science* 77:1259-1265.

**Jin L Z., Ho Y W., Ali A M., et al., 1996.** Adhesion of *Lactobacillus* isolates to intestinal epithelial cells of chicken. *Letters in Applied Microbiology* 22 (3): 229-232.

**Józefiak D., Rutkowski A., Martin S A., 2004.** Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. *Animal Feed Science and Technology* 113: 1–15.

**Juin H., Dusart L., Pattier S., Uzureau A., Bordeaux C., Roinsard A., 2015.** Alimentation des volailles en agriculture biologique. *Cahier technique* 68 p.

## K

**Kabir S M L., Rahman N M., Rahman M B., Rahman M M., Ahmed S U., 2004.** The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science* 3: 361-364.

**Karimi Torshizi M A., Rahimi Sh., Mojjani N., Esmailkhanian S., Grimes J L., 2008.** Screening of indigenous strains of lactic acid bacteria for development of a probiotic for poultry. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 21(10): 1495 - 1500

**Khaksefid A., Ghoorchi T., 2006.** Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. *Journal of Poultry Science* 43 (3): 296-300.

**Kim J S., Ingale S L., Kim Y W., Kim K H., Sen S., Ryu M H., Lohakare J D., Kwon I K., Chae B J., 2012.** Effect of supplementation of multi-microbe probiotic product on growth performance, apparent digestibility, cecal microbiota and small intestinal morphology of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96: 618-626.

**Kim P I., Jung M Y., Chan Y H., Kim S., Kim S J., Park Y H., 2007.** Probiotic properties of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains isolated from porcine gastrointestinal tract. *Applied Microbiology and Biotechnology* 74: 1103-1111.

**Kizerwelter-Swida M., Binek M., 2005.** Selection of potentially probiotic *Lactobacillus* strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria. *Polish Journal of Microbiology* 54 (4): 287-294.

**Kohl K D., 2012.** Diversity and function of the avian gut microbiota. *Journal of Comparative Physiology B* 182: 591-602.

**Kos B V Z E., Šušković J., Vuković S., Šimpraga M., Frece J., Matošić S., 2003.** Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology* 94 (6): 981-987.

**Krehbiel C R., Rust S R., Zhang G., Gilliland S E., 2003.** Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: performance response and mode of action. *Journal of Animal Science* 81: 120-132.

**L**

**La Ragione R M., Best A., Sprigings K., Liebana E., Woodward G R., Sayers A R., Woodward M J., 2005.** Variable and strain dependent colonization of chickens by *Escherichia coli* O157. *Veterinary Microbiology* 107: 103-116.

**Larbier M., Leclercq B., 1992.** Nutrition et alimentation des volailles. INRA. Ed. Versailles (France), 352 p.

**Lee H Y., Park J H., Seok S H., Baek M W., Kim D J., Lee K E., Paek K S., Lee Y., Park J H., 2006.** Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1761: 736-744.

**Lee K., Lillehoj H S., Siragusa G R., 2010.** Direct-fed microbials and their impacts on the intestinal microflora and immune system of chickens. *Journal of Poultry Science* 47: 106-114.

**Lee S H., Lillehoj H S., Dalloul R A., Park D W., Hong Y H., Lin J J., 2007.** Influence of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. *Poultry Science* 86: 63-66.

**Lee S H., Lillehoj H S., Park D W., Hong Y H., Lin J J., 2007.** Effects of *Pediococcus* and *Saccharomyces* based probiotic (MitoMax®) on coccidiosis in broiler chickens. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 30: 261-268.

**Lin W H., Yu B., Jang S H., Tsen H Y., 2007.** Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe* 13: 107-113.

**Liu J R., Lai S F., Yu B., 2007.** Evaluation of an intestinal *Lactobacillus reuteri* strain expressing rumen fungal xylanase as a probiotic for broiler chickens fed on a wheat-based diet. *British Journal of Poultry Science* 48: 507-514.

**Lu J., Idris U., Harmon B., Hofacre C., Maurer J J., Lee M D., 2003.** Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Applied and Environmental Microbiology* 69 (11): 6816-6824.

**M**

**Mahajan P., Sahoo J., Panda P C., 1999.** Effects of probiotic feeding and seasons on the growth performance and carcass quality of broilers. *Indian Journal of Poultry Science* 34: 167-176.

**Marteau P., 2001.** Safety aspects of probiotic products. *Scandinavian Journal of Nutrition* 45:8-12.

**Messaoudi S., Madi A., Prévost H., Feuilloy M., Manai M., Dousset X., Connil N., 2012.** *In vitro* evaluation of the probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* SMXD51. *Anaerobe* 18: 584-589.

**Mikulski D., Jankowski J., Naczmannski J., Mikulska M., Demey V., 2012.** Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poultry Science* 91: 2691-2700.

**Moreira J L S., Mota R M., Horta M F., Teixeira S M R., Neumann E., Nicoli J R., Nunes A C., 2005.** Identification to the species level of *Lactobacillus* isolated probiotic prospecting studies of human, animal or food origin 16S-23S rRNA restriction profiling. *BMC Microbiology* 5 (1) : 1-9.

**Mountzouris K C., Beneas H., Tsirtsikos P., Kalamara E., Fegeros K., 2006.** Efficacy of a new multi-strain probiotic product in promoting broiler performance and modulating the composition and activities of cecal microflora. *International Poultry Science Forum*. Atlanta, Georgia. p 59.

**Mountzouris K C., Tsistsikos P., Kalamara E., Nitsh S., Schatzmayr G., Fegeros K., 2007.** Evaluation of the efficacy of probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science* 86: 309-317.

## N

**Netherwood T., Gilbert H J., Parker D S., Donnell A G., 1999.** Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology* 65(11): 5134-5138.

**Noohi N., Ebrahimipour G., Rohani M., Talebi M., Pourshafie M R., 2014.** Phenotypic characteristics and probiotic potentials of *Lactobacillus spp.* Isolated from poultry. *Jundishapur Journal of Microbiology* 7 (9): e17824.

## O

**Oakley B B., Lillehoj H S., Kogut M H., Kim W K., Maurer J J., Pedroso A., Lee M D., Collett S R., Johnson T J., Cox N A., 2014.** The chicken gastrointestinal microbiome. *Microbiology Letter* 360: 100-112

**Ohimain E I., Ofongo R T S., 2012.** The effect of probiotic and prebiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: A Review. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 4(2): 135-143.

**Opalinski M., Maiorka A., Dahlke F., Cunha F., Vargas F S C., Cardozo E., 2007.** On the use of a probiotic (*Bacillus subtilis*- strain DSM 17299) as growth promoter in broiler diets. *Brazilian Journal of Poultry Science* 9: 99-103.

**Ortu S., Felis G E., Martzotto M., Derius A., Molicotti P., Sechi I A., 2007.** Identification and functional characterization of *Lactobacillus* strains isolated from milk and Gioddu, a traditional Sardinian fermented milk. *International Dairy Journal* 17: 1312-1320.

**P**

**Patterson J A., Burkholder K M., 2003.** Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science* 82: 627-631.

**Pedroso A A., Menten J F M., Racanicci A M C., Longo F A., Sorbara J O B., Gaitto J B., 2003.** Performance and organ morphology of broilers fed microbial or antimicrobial additives and raised in batteries or floors pens. *Revus Brazillia Ciencia* 5 (3): 111-117.

**Pelicano ERL., Souza P A De., Souza H B A De., Oba A., Norkus E A., Kodawara L M., Lima T M A De., 2003.** Effect of different probiotic on broiler carcass and meat quality. *Brazilian Journal of Poultry Science* 5(3): 207-214.

**Percival M., 1997.** Choosing a probiotic supplement. *Clinical Nutrition Insights* 6: 1-4.

**Pinto M G V., Franz M A P., Schillinger U., Holzapfel W H., 2006.** *Lactobacillus* spp. with *in vitro* probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International Journal of Food Microbiology* 109: 205–214.

**Piquepaille C., 2013.** Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales. Thèse de doctorat en pharmacie, université de Limoges, France. 163 pages

**Porto M C W., Kuniyoshi T M., Azevedo P O S., Vitolo M., Oliveira R P S., 2017.** *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology Advances* 35: 361–374.

**R**

**Raghavendra P., Halami P M., 2009.** Screening, selection and characterization of phytic acid degrading lactic acid bacteria from chicken intestine. *International Journal of Food Microbiology* 133: 129–134.

**Rajkowska K., Kunicka-Styczynska A., 2010.** Probiotic properties of yeasts isolated from chicken feces and kefir. *Polish Journal of Microbiology* 59 (4): 257-263

**Reque E. De F., Pandey A., Franco S G., Soccol C R., 2000.** Isolation, identification and physiological study of *Lactobacillus fermentum* Lpb for use as probiotic in chickens. *Brazilian Journal of Microbiology* 31: 303-307

**Reuben R C., Roy P C., Sarkar S L., Alam R U., Jahid I K., 2019.** Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiology* 19(1): 1-20.

**Rodriguer A T., Donoghue A M., Donoghue D J., Tellez G., Hargis B M., 2007.** Performance and condemnation rate analysis of commercial turkey flocks treated with a *Lactobacillus spp.* based probiotic. *Poultry Science* 86 (3): 444-446.

**Rodriguez-Palacios A., Staempfli H R., Duffield T., Weese J S., 2009.** Isolation of bovine intestinal *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* with inhibitory activity against *Escherichia coli* O157 and F5. *Journal of Applied Microbiology* 106: 393–401.

**Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E., 1980.** Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiology Letter* 9: 29-33.

**Roto S M., Rubinelli P M., Ricke S C., 2015.** An introduction to the avian gut microbiota and the effects of yeast-based prebiotic-type compounds as potential feed additives. *Frontiers in Veterinary Science* 2 (28): 1-18

## S

**Saarala M., Lahteenmaki I., Crittenden R., Salminen S., Mattila-Sandholm T., 2002.** Gut bacteria and health foods- the European perspective. *International Journal of Food Microbiology* 78: 99-117.

**Salehizdeh M., Modarressi M H., Mousavi S N., Ebrahimi M T., 2020.** Evaluation of lactic acid bacteria isolated from poultry feces as potential probiotic and its *in vitro* competitive activity against *Salmonella typhimurium*. *Veterinary Research Forum* 11 (1): 67-75.

**Salminen S., 1999.** Probiotics: scientific support for use. *Food Technology* 53: 1-11.

**Salminen S., Bouley C., Boutron-Ruault M. C., Cummings J. H., Franck A., Gibson G. R., Isolauri E., Moreau M. C., Roberfroid M., Rowland I., 1998.** Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Brazilian Journal of Nutrition* 80: 147-171.

**Santini C., Baffoni L., Gaggia F., Granata M., Gasbarri R., Di Gioia D, Biavati B., 2010.** Characterization of probiotic strains: an application as feed additives in poultry against *Campylobacter jejuni*. *International Journal of Food Microbiology* 141: S98–S108.

**Santoso U., Tanaka K., Ohtani S., 1995.** Effect of dried *Bacillus subtilis* culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks. *Brazilian Journal of Nutrition* 74: 523-529.

**Schillinger U., Lucke F-K., 1989.** Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology* 55 (8): 1901-1906.

**Sengeløv G., Halling-Sorensen B., Aarestrup F M., 2003.** Susceptibility of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* isolated from pigs and broiler chickens to tetracycline degradation products and distribution of tetracycline resistance determinants in *E. coli* from food animals. *Veterinary Microbiology* 95: 91-101.

**Shazali N., Foo H L., Teck C L., Choe D W., Abdul Rahim R., 2014.** Prevalence of antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from faeces of broiler chicken in Malaysia. *Gut pathogens* 6 (1): 1-7.

**Soomro A H., Masud T., Anwaar K., 2002.** Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. Review. *Pakistan Journal of Nutrition* 1(1): 20-24.

**Stanley D., Hughes R J., Moore R J., 2014.** Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98: 4301-4310.

#### T

**Temim S., Hammami N., Bedrani L., Sahraoui L., Kaddour R., Boudina H., Khelef D., Adjou K., Ain Baziz H., 2009.** Evaluation de l'efficacité du probiotique *Pediococcus acidilactici* sur les performances de croissance, la morphométrie et la flore lactobacillaire de l'intestin du poulet de chair. *Journal Européen de Recherche Scientifique* 38 (1): 119-128.

**Tournut J., 1989.** Les probiotiques en élevage : applications. *Review of Science and Technology of the Office International of Epizootics* 8 (2): 533-549.

**Tutenel A V., Pierard D., Van Hoof J., Cornelis M., De Zutter L., 2003.** Isolation and moléculaire characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle, pigs and chickens at slaughter. *International Journal of Food Microbiology* 84: 63-69.

#### V

**Van Belkum M J., Stiles M E., 2000.** Nonantibiotic antibacterial peptides from lactic acid bacteria. *Natural Product Reports* 17 (4): 323-335.

**Vidhyasagar V., Jeevaratnam K., 2013.** Evaluation of *Pediococcus pentosaceus* strains isolated from Idly batter for probiotic properties *in vitro*. *Journal of Functional Foods* 5: 235-243.

#### W

**Wang C Y., Lin P R., Ng C C. Shyu Y T., 2010.** Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from the feces of breast-fed infants and Taiwanese pickled cabbage. *Anaerobe* 16: 578-589.

**Wielen P W., Biesterveld S., Notermans S., Hofstra H., Urlings B A P., Knapen F V., 2000.** Role of volatile fatty acids in developments of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 2536-2540.

**Y**

**Yadav S., Jha R., 2019.** Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10 (2): 1-11.

**Yan S S., Gilbert J M., 2004.** Antimicrobial drug delivery in food animals and microbial food safety concerns: an overview of *in vitro* and *in vivo* factors potentially affecting the animal gut microflora. *Advanced Drug Delivery Reviews* 56: 1497– 1521.

**Yason C V., Summers B A., Schat K A., 1987.** Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: pathology. *American Journal of Veterinary Research* 6: 927-938.

**Yirga H., 2015.** The use of probiotics in animal nutrition. *Journal Probiotics and Health* 3 (2):1-10.

**Yoruk M A., Gul M., Hayirli A., Macit M., 2004.** The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. *Poultry Science* 83: 84-88.

**Yu B., Liu J R., Hsiao F S., Chiou P W S., 2008.** Evaluation of *Lactobacillus reuteri* Pg4 strain expressing heterologous  $\beta$ -glucanase as a probiotic in poultry diets based on barley. *Animal Feed Science and Technology* 141: 82-91.

**Z**

**Zacconi C., Scolari G., Sarra P G., 1999.** Effect of administration of *Lactobacillus salivarius* and lactic microflora in chick digestive tract. *Annales of Microbiology and Enzimology* 49: 117-123.

**Zarei A., Lavvaf A., Motlagh M M., 2018.** Effects of probiotic and whey powder supplementation on growth performance, microflora population, and ileum morphology in broilers. *Journal of Applied Animal Research* 46 (1): 840–844.

**Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C. M.A.P., Harris H.M.B., Mattarelli P., O'Toole P.W., Pot B., Vandamme P., Walter J., Watanabe K., Wuyts S., Felis G.E., Gänzle M.G., Lebeer S., 2020.** A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of

23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70: 2782-2858.

**Zulkifli I., Rahayu H S I., Alimon A R., Vidyadaran M K., Babjee S A., 2009.** Gut microflora and intestinal morphology of commercial broiler chickens and Red Jungle Fowl fed diets containing palm kernel meal. *Archiv fur Geflügelkunde* 73 (1): 49-55.

# **Annexe**

# Annexe 1

## Questionnaire Poulet de chair

Date de la visite :

Poulailler N° :

Nombre de bâtiments :

Paramètres			Remarques	
Type d'élevage		Traditionnel, Moderne		
Mode d'élevage		Au sol/En batterie/Mixte (sol-batterie)		
<b>Bâtiment</b>	Environnement	Ville/Village/Vallée/Colline.		
	Type de bâtiment	Clair, Obscure		
	Eloigné de tous facteur de stress	Oui/Non		
	Surface (m <sup>2</sup> )			
	Aération	Naturelle		
		Ventilation		
		Fréquence		
	Lumière	Naturelle, Artificielle		
		Intensité		
	Méthode de chauffage			
	Température (chaque étape)			
	Humidité			
	Mangeoire	Nombre		
		Taille		
		Matière		
	Abreuvoir	Nombre		
		Taille		
		Matière		
	Fréquence de nettoyage	Mangeoire Abreuvoir		
	Sol	Béton, gravies/caillou		
	Mur	Chaulé, parpaing, métal		
	Toit	Matière :		
	Fenêtre	Nombre :		
Grillagée : Oui/Non				
<b>Poulet</b>	Nombre total			
	Catégorie d'âge			
	Densité (poulet/m <sup>2</sup> )			
	Nombre/cage			
	Race	Locale		
Importée				

	Souche			
	Choix de la souche			
	Age d'abattage			
	Poids d'abattage			
	Nbr de bande/an			
<b>Eau</b>	Fréquence de remplissage			
	Distribution régulière	Oui/Non (heure fixe)		
	Analyse microbiologique	Oui/non Fréquence		
<b>Aliment</b>	Type d'aliment	Général		
		Spécifique : Démarrage Croissance Finition		
	Qt distribuée/j			
	Qt consommée/j			
	Fréquence de distribution			
	Période de distribution			
	Distribution régulière	Oui/Non (heure fixe)		
	Ingrédients			
	Avec additifs	Vitamines		
		Antibiotiques (facteur de croissance, médicament)		
		Autres		
	Analyse microbiologique	Oui/non Fréquence		
<b>Hygiène</b>	Sol (litière)	Epaisseur		
		Genre: Sèche /Humide		
		Nature :		
		Fréquence de renouvellement		
		Pulvérisation anti-septique		
	Local	Désinfection : oui/non Fréquence Durée de vide sanitaire Aération préalable		
		Pédiluve	Oui/ non	
			Type	
<b>L'éleveur</b>	Nbr de main d'ouvre			
	Expérience dans le domaine			
	Niveau d'étude			
	Connaissances dans le domaine			

	Formation, amélioration		
	Culture d'hygiène		
	Autres activités		
<b>Soins vétérinaires</b>	Mortalité	Taux Causes	
	Elimination de sujets malades	Oui/non	
	Fréquence de contrôle		
	Maladies	Parasitaire Bactérienne Virale Carence	

## **Annexe 2**

### **Résultats de l'enquête réalisée au niveau de la wilaya de Béjaia**

**Tableau I :** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair(P01 et P02)de la wilaya de Bejaia.

<b>Poulailler</b>	<b>P01</b>	<b>P02</b>
<b>Elevage</b>	1 bâtiment ; traditionnel, au sol	2 bâtiments ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 170 m <sup>2</sup> ; éclairé; pas de stress; aération naturelle et ventilation (2 extracteurs); lumière naturelle et artificielle; chauffé au gaz de butane; sol en béton; mur en parpaing chaulé avec 1fenêtre/3m.	Surface de 450 m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle et ventilation (2 extracteurs) ; lumière naturelle et artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en béton ; mur en parpaing chaulé ; toit en béton ; 25 fenêtres.
<b>Poulet</b>	1500 poulets; 8 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche ISA15, importée; abattue à 55-60 jours à 2,8 Kg de poids, 4 bandes/an.	5000 poulets ; 11 poulets/m <sup>2</sup> ; souche ISA15 ; importée ; abattue à 55-60 jours à 2,4 Kg de poids ; 10 bandes/an.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau :</b> distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment :</b> de croissance, distribué 1fois/jour, pas d'analyse microbiologique. Absence d'additifs.	<b>Eau :</b> distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment :</b> de démarrage, croissance et finition ; distribué 1 fois/jour ; pas d'analyse microbiologique ; pas d'additifs.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires : fin de bande, des abreuvoirs : tout les 3jours. Changement de litière non régulier. Vide sanitaire de 30 jours. Absence de pédiluve.	Nettoyage des mangeoires : fin de bande, des abreuvoirs : chaque matin. Ajout de litière tout les trois jours. Vide sanitaire de 20 jours ; absence de pédiluve.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôles non réguliers. Taux de mortalité inconnu.	Contrôle vétérinaire fréquent ; taux de mortalité d'environ 1%.
<b>Traitement</b>	Vaccination : Newcastle (1 et 7 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : eurofloxacine (1 <sup>er</sup> jour, prévention).	Vaccination : Newcastle (7 <sup>ème</sup> , 21 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : eurofloxacine (1 <sup>er</sup> -5 <sup>ème</sup> jour, prévention) ; anticoccidiens (17 <sup>ème</sup> , 24 <sup>ème</sup> jour), antistress (1 <sup>er</sup> jour)

**Tableau II** : Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P03 et P04) de la wilaya de Bejaia.

<b>Poulailler</b>	<b>P03</b>	<b>P04</b>
<b>Elevage</b>	2 bâtiments ; traditionnel, au sol	1 bâtiment ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 200 m <sup>2</sup> ; éclairé; pas de stress; aération naturelle et ventilation (3 extracteurs); lumière naturelle et artificielle; chauffage au gaz de butane; sol en béton; mur en parpaing chaulé avec 10 fenêtres.	Surface 450m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle ; lumière naturelle et artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en béton ; mur en parpaing chaulé ; toit en métal ; 10 fenêtres.
<b>Poulet</b>	1000 poulets; 5 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche la Cob, importée; abattue à 60 jours à 3,7 Kg de poids, 2 bandes/an.	4000 poulets ; 8 poulets/m <sup>2</sup> ; souche ISA15 ; importée; abattue à 50-55 jours à 2,8 Kg de poids ; 4 bandes/an.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau</b> : distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué 1 fois/jour, pas d'analyse microbiologique. Des vitamines à partir du 45 <sup>ème</sup> jour.	<b>Eau</b> : distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué 2 fois/jour ; pas d'analyse microbiologique ; avec ajout de vitamines.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires : fin de bande, des abreuvoirs : chaque jour. Changement de litière non régulier. Vide sanitaire de 20 jours. Absence de pédiluve.	Nettoyage des mangeoires : rarement ; des abreuvoirs : chaque jour. Ajout de litière si nécessité. Vide sanitaire de 20- 30 jours. Absence de pédiluve.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôles non réguliers. Taux de mortalité de 0,08%.	Contrôle vétérinaire fréquent ; taux de mortalité d'environ 8-10%.
<b>Traitement</b>	Vaccination : Newcastle (1 et 7 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : eurofloxacine (1 <sup>er</sup> -3 jour, prévention). Anticoccidiens (18 <sup>ème</sup> , 28 <sup>ème</sup> et 38 <sup>ème</sup> jour)	Vaccination : Newcastle (7 <sup>ème</sup> , 21 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour), Bronchite infectieuse Antibiotiques : eurofloxacine (prévention, à 10% ; 1 ml/2L).

**Tableau III** : Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P05 et P06) de la wilaya de Bejaia.

<b>Poulailler</b>	<b>P05</b>	<b>P06</b>
<b>Elevage</b>	1 bâtiments ; traditionnel, au sol	1 bâtiment ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 300 m <sup>2</sup> ; éclairé; pas de stress; aération naturelle et ventilation (2 extracteurs); lumière naturelle et artificielle; chauffage au gaz de butane; sol en béton; mur en parpaing chaulé avec 28 fenêtres.	Surface 300 m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle ; lumière naturelle et artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en béton; mur en parpaing chaulé ; 19 fenêtres.
<b>Poulet</b>	2400 poulets; 8 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche Couq50, importée; abattue à 50-55 jours à 2,4 Kg de poids, 4-5 bandes/an.	2300 poulets ; 7 poulets/m <sup>2</sup> ; souche ISA15 ; importée; abattue à 55-60 jours à 3 Kg de poids ; 3-4 bandes/an.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau</b> : distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué 2 fois/jour, pas d'analyse microbiologique ; Ajout de vitamines.	<b>Eau</b> : distribution en continu, réalisation d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué 1 fois/jour ; pas d'analyse microbiologique ; Ajout de vitamines.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires : rarement; des abreuvoirs : chaque jour. Changement de litière non régulier. Vide sanitaire de 20jours. Absence de pédiluve.	Nettoyage des mangeoires : rarement ; des abreuvoirs : 2 fois/jour. Ajout de litière si nécessité. vide sanitaire de 20 jours. Présence de pédiluve.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôles réguliers. Taux de mortalité de 0,3%.	Contrôle vétérinaire fréquent ; taux de mortalité d'environ 2%.
<b>Traitement</b>	Vaccination : Newcastle (1 et 7 <sup>ème</sup> jour) ; Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : eurofloxacine (prévention). Anticoccidiens.	Vaccination : Newcastle (7 <sup>ème</sup> , 21 <sup>ème</sup> jour); Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques/ eurofloxacine, erythromycine (prévention, à 10% ; 1 ml/2 L). anti-stress.

**Tableau IV** : Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P07 et P08) de la wilaya de Bejaia.

<b>Poulailler</b>	<b>P07</b>	<b>P08</b>
<b>Elevage</b>	1 bâtiments ; traditionnel, au sol	1 bâtiment ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 300 m <sup>2</sup> ; éclairé; pas de stress; aération naturelle et ventilation (3 extracteurs); modificateur; lumière naturelle et artificielle; chauffage au gaz de butane; sol en béton; mur en parpaing chaulé ; toit en métal avec 14 fenêtres.	Surface 300 m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle ; lumière naturelle et artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en béton ; mur en parpaing chaulé ; pas de fenêtres (petites ouvertures).
<b>Poulet</b>	4000 poulets; 13 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche ISA15, importée; abattue à 50-55 jours à 3,5Kg de poids, 4 bandes/an.	2500 poulets ; 8 poulets/m <sup>2</sup> ; souche ISA15 ; importée ; abattue à 50-55 jours à 2 Kg de poids ; 4 bandes/an.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau</b> : distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage et finition ; distribué 2 fois/jour, pas d'analyse microbiologique. Ajout de vitamines.	<b>Eau</b> : distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué 2 fois/jour ; pas d'analyse microbiologique ; Ajout de vitamines (B3).
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires : fin de bande, des abreuvoirs : chaque jour. Changement de litière non régulier. Vide sanitaire de 20jours. Absence de pédiluve.	Nettoyage des mangeoires : rarement ; des abreuvoirs : chaque jour. Ajout de litière si nécessité. Vide sanitaire de 20- 30 jours. Absence de pédiluve.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôle non régulier. Taux de mortalité de 2%.	Contrôle vétérinaire non régulier ; taux de mortalité d'environ 4%.
<b>Traitement</b>	Vaccination : Newcastle (1 et 7 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : eurofloxacine (1 <sup>er</sup> -5 jour, prévention). Anticoccidiens (21 <sup>ème</sup> jour).	Vaccination : Newcastle (7 <sup>ème</sup> , 21 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : eurofloxacine (prévention, à 10% ; 1ml/2L). anticoccidiens.

**Tableau V** : Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P09 et P10) de la wilaya de Bejaia.

<b>Poulailler</b>	<b>P09</b>	<b>P10</b>
<b>Elevage</b>	5 bâtiments ; traditionnel, au sol	1 bâtiment ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 500 m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle et 2 extracteurs; lumière naturelle et artificielle; chauffage au gaz de butane; sol en bitant; mur en parpaing avec 3 fenêtres.	Surface 100 m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle ; lumière naturelle et artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en béton ; mur en parpaing chaulé ; toit en béton ; 5 fenêtres.
<b>Poulet</b>	5200 poulets; 10 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche ISA15, importée; abattue à 55 jours à 2,8eKg de poids, 4 bandes/an.	1000 poulets ; 10 poulets/m <sup>2</sup> ; souche Arbor Acre ; importée ; abattue à 50 jours à 2 Kg de poids ; 2 bandes/an.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau</b> : distribution en continu, réalisation d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué 2 fois/jour, pas d'analyse microbiologique.	<b>Eau</b> : distribution en continu, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué 2 fois/jour ; pas d'analyse microbiologique.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires: régulièrement, des abreuvoirs : chaque jour. Changement de litière non régulier. Vide sanitaire de 30 jours. Absence de pédiluve.	Nettoyage des mangeoires : rarement ; des abreuvoirs : chaque jour. Ajout de litière si nécessité. Vide sanitaire de 20- 30 jours. Absence de pédiluve.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôles réguliers. Taux de mortalité faible.	Contrôle vétérinaire fréquent ; taux de mortalité inconnu.
<b>Traitement</b>	Vaccination : Newcastle (1 et 7 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : eurofloxacine (prévention).	Vaccination : Newcastle (7 <sup>ème</sup> , 21 <sup>ème</sup> jour), Gumboro (14 <sup>ème</sup> jour). Antibiotiques : ampicilline (traitement).

### Annexe 3

#### Résultats de l'enquête réalisée à la wilaya de Bouira

**Tableau VI :** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P A et P B) de la wilaya de Bouira.

<b>Poulailler</b>	<b>P A</b>	<b>P B</b>
<b>Elevage</b>	1 bâtiment ; traditionnel, au sol	1 bâtiment ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 450 m <sup>2</sup> ; éclairé; pas de stress; aération naturelle; lumière naturelle et artificielle; chauffage au gaz de butane.	Surface 310 m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle ; lumière naturelle et artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en cailloux ; mur en parpaing; toit en polystyrène; 10 fenêtres.
<b>Poulet</b>	7000 poulets; 15 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche la Cob; locale ; abattue à 55 jours à 2,7 Kg de poids, 4 bandes/an.	2000 poulets ; 6 poulets/m <sup>2</sup> ; souche la Cob ; locale ; abattue à 50 jours à 2,8Kg de poids.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau :</b> distribution une fois/jour sans contrôle microbiologique. <b>Aliment:</b> de démarrage, croissance et finition avec une distribution non régulière et sans additifs alimentaires.	<b>Eau :</b> distribution 2 fois/ jour, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment:</b> de démarrage, croissance et finition avec distribution 2 fois/jour et avec ajout de vitamines comme additifs alimentaires et d'antibiotiques comme facteurs de croissance.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires et des abreuvoirs chaque semaine.	Nettoyage des mangeoires et abreuvoirs 2 fois/semaine. Un vide sanitaire de 15- 20 jours. Absence de pédiluve.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôles non réguliers, 2 fois/bande.	Contrôle vétérinaire non régulier, 2 fois/bande ;
<b>Traitement</b>	Vaccination: Newcastle, Gumboro.	Vaccination : Newcastle, Gumboro

**Tableau VII :** Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair(P C et P D) de la wilaya de Bouira.

<b>Poulailler</b>	<b>P C</b>	<b>P D</b>
<b>Elevage</b>	1 bâtiment ; traditionnel, au sol	1 bâtiment ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 360 m <sup>2</sup> ; éclairé; avec un peu de stress; aération naturelle; lumière naturelle et artificielle; chauffage au gaz de butane.	Surface 200 m <sup>2</sup> ; éclairé ; pas de stress; aération naturelle ; lumière artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en cailloux ; mur en parpaing; 8 fenêtres.
<b>Poulet</b>	2400 poulets; 6 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche la cobb; abattue à 50 jours à 2,8 Kg de poids.	1200 poulets ; 6 poulets/m <sup>2</sup> ; souche Alborac ; locale ; abattue à 45 jours à 2,8 Kg de poids.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau :</b> distribution 2 fois/jour sans contrôle microbiologique. <b>Aliment:</b> de démarrage, croissance et finition avec distribution 2 fois/jour, avec ajout de vitamines comme additifs alimentaires et d'antibiotiques comme facteurs de croissance ; sans contrôle microbiologique.	<b>Eau :</b> distribuée chaque jour régulièrement, pas d'analyse microbiologique. <b>Aliment:</b> de démarrage, croissance et finition ; distribué matin et soir régulièrement avec ajout de vitamines comme additifs; pas d'analyse microbiologique.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires et des abreuvoirs 2 fois/ semaine.	Nettoyage des mangeoires non régulier et des abreuvoirs chaque matin. Absence de pédiluve.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôles non réguliers, 2 fois/bande.	Contrôle vétérinaire non régulier.
<b>Traitement</b>	Vaccination : Newcastle, Gumboro	Vaccination : Newcastle, Gumboro

**Tableau VIII** : Résultats de l'enquête menée dans deux poulaillers de poulet de chair (P E et P F) de la wilaya de Bouira.

<b>Poulailler</b>	<b>P E</b>	<b>P F</b>
<b>Elevage</b>	2 bâtiments ; traditionnel, au sol	2 bâtiments ; traditionnel ; au sol.
<b>Bâtiment</b>	Surface de 370 m <sup>2</sup> ; éclairé; pas de stress; aération naturelle; lumière artificielle; chauffage au gaz de butane. sol en béton ; mur en parpaing.	Surface 500 m <sup>2</sup> ; éclairé ; un peu de stress; aération naturelle ; lumière artificielle ; chauffage au gaz de butane ; sol en béton ; mur en parpaing; 24 fenêtres.
<b>Poulet</b>	3000 poulets; 8 poulets/m <sup>2</sup> ; la souche la cobb; abattue à 50 jours à 3 Kg de poids.	5000 poulets ; 10 poulets/m <sup>2</sup> ; souche la cobb ; locale ; abattue à 50 jours à 3 Kg de poids.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau</b> : distribution 2 fois/jour, régulièrement ; <b>Contrôle</b> microbiologique fréquent. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition avec distribution à heure fixe et avec ajout de vitamines comme additifs alimentaires et d'antibiotiques comme facteurs de croissance ; contrôle microbiologique fréquent.	<b>Eau</b> : distribuée 2 fois/jour, régulièrement, analyse microbiologique fréquente. <b>Aliment</b> : de démarrage, croissance et finition ; distribué à heure fixe avec ajout de vitamines comme additifs; analyse microbiologique fréquente.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires et des abreuvoirs tout les 10 jours.	Nettoyage des mangeoires non régulier et les abreuvoirs tout les 10 jours.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôle 3 fois/bande.	Contrôle 3 fois/bande
<b>Traitement</b>	Vaccination :Newcastle, Gumboro	Vaccination : Newcastle, Gumboro

**Tableau IX :** Résultats de l'enquête menée dans un poulailler de poulet de chair (P G) de la wilaya de Bouira.

<b>Poulailler</b>	<b>P G</b>
<b>Elevage</b>	1 bâtiment ; traditionnel, au sol
<b>Bâtiment</b>	Surface de 450 m <sup>2</sup> ; éclairé; pas de stress; aération naturelle; lumière artificielle; chauffage au gaz de butane, sol en béton ; mur chaulé.
<b>Poulet</b>	7000 poulets; la souche la Cob; abattue à 55 jours à 2,7 Kg de poids.
<b>Alimentation</b>	<b>Eau :</b> distribution 1 fois/jour, régulièrement. Pas de contrôle microbiologique. <b>Aliment:</b> de démarrage, croissance et finition avec distribution non régulière et sans additifs alimentaires; pas de contrôle microbiologique.
<b>Hygiène</b>	Nettoyage des mangeoires et des abreuvoirs chaque semaine.
<b>Soins vétérinaires</b>	Contrôle 2 fois/bande.
<b>Traitement</b>	Vaccination : Newcastle, Gumboro

## Résumé

Au cours de cette étude, une enquête a été réalisée dans le but de connaître les conditions d'élevage. Les résultats montrent un élevage traditionnel avec la dominance des souches Isabrown 15 et la Cob et une utilisation des antibiotiques à titre préventif. L'étude de la flore intestinale montre la richesse de cette flore en lactobacilles ( $10^8$  à  $10^9$  UFC/g) et en levures ( $10^6$  à  $10^8$  UFC/g).

Un isolement de souches de *Lactobacillus* et de *Pediococcus* a été réalisé à partir des fientes de poulets de chair et plusieurs tests *in vitro* ont été réalisés dans le but de mettre en évidence leurs effets probiotiques. Ces souches ont été testées pour leur activité antibactérienne vis-à-vis de certaines souches pathogènes (*E. coli* ATCC25922, *Salmonella enterica* CIP 81-3, *S. aureus* ATCC25923 et *L. innocua* CIP 74915) dont on a trouvé une bonne activité antibactérienne (10 à 24 mm de diamètre), évaluées quant à leur résistance à l'acidité (une très bonne résistance aux pH 2 ; 2.5 et 3) et à la bile (0.1 ; 0.3 et 0.5%) ainsi que leur capacité d'adhésion sur cellules épithéliales de poulet.

A travers les résultats des tests de criblage, une souche de *Lactobacillus* (S27) a été sélectionnée pour l'étude *in vivo*. Des tests *in vivo* ont été réalisés sur des poussins pour étudier l'efficacité de la souche sélectionnée sur les paramètres zootechniques. Les résultats montrent que les poids moyens obtenus à la fin d'élevage (après 60 jours) ont été respectivement de  $3246 \pm 356,99$  g chez les poulets du lot test (lot 3),  $2977 \pm 234,45$  g chez ceux du lot 2 (TEM) et  $2978 \pm 194,46$  g chez ceux du lot 1 (ATB). Les gains moyens quotidiens de poids des poussins ont également été calculés, les résultats montrent des variations significatives ( $P < 0,05$ ) du gain moyen quotidien de poids tout au long de la période d'élevage. L'analyse histologique n'a montré aucun effet de cette souche (S27) sur les trois segments de l'intestin de poulet de chair (duodénum, jéjunum et iléon) ce qui confirme la non-toxicité de la souche. A travers l'ensemble des résultats de cette étude, cette souche peut être utilisée comme probiotique en alimentation de poulet de chair pour remplacer les antibiotiques dans le but d'améliorer la croissance de poulet et de lutter contre le phénomène de la résistance aux antibiotiques.

**Mots clés :** Probiotique, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, poulet de chair, *in vivo*, flore intestinale

## ملخص

في هذه الدراسة قمنا باستجواب لمعرفة احوال تربية الدجاج. اظهرت النتائج ان التربية تقليدية و ان الفصيلة المستخدمة هي Isabrown 15 et la Cob واستخدام المضادات الحيوية في التربية. التجارب على المكروبات المعوية اثبتت كثرة البكتيريا اللبنية خاصة *Lactobacillus* ما بين  $10^8$  الى  $10^9$  خلية/غرام خلية  $10^6$  الى  $10^8$  خلية/غرام دراسة التضاد الحيوي للبكتيريا اللبنية *Lactobacillus* et *Pediococcus* اثبتت فعاليتها ضد البكتيريا المسببة لأمراض عند الدجاج *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Escherichia coli* و يتراوح القطر بين 10 à 24 مم. التجارب الاخرى لاختيار البكتيريا الفعالة probiotique اثبتت مقاومتها لحموضة المعدة خصوصا درجة الحموضة من 2 الى 3 في محلول MRS لمدة ساعتين وكذلك لمقاومتها للاملاح الصفراوية لمدة 4 ساعات في محلول MRS بتركيز 0.1 ; 0.3 ; 0.5. هذه البكتيريا البنية اثبتت قدرتها الكبيرة على التمسك الي الخلايا المعوية لدجاج. كل هذه النتائج ادت الى اختيار بكتيريا لبنية واحدة S27 لاجراء التجارب الاخرى على الدجاج لمعرفة فعاليتها في زيادة الوزن. اظهرت النتائج مكانية تحسين زيادة الوزن بالنسبة للفوج الذي اخذ البكتيريا عن طريق التغذية الالانوبية ( $10^9$  خلية/مل) مقارنة بالافواج الاخرى حيث ان الوزن وصل الي  $3246 \pm 356,99$  غ بالنسبة للفوج الذي تغذى بالبكتيريا اللبنية المختارة. كل هذه النتائج تثبت امكانية استخدام البكتيريا المختارة في تغذية دجاج اللحم.

**الكلمات المفتاحية :** البكتيريا اللبنية. دجاج اللحم. المكروبات المعوية.

## Abstract

In this study, an investigation was carried out in order to know the breeding conditions. The results show traditional breeding with the dominance of Isabrown and Cob. The use of antibiotic has also been observed. We study also the microflora and we find the dominance of *Lactobacillus* with number of  $10^8$  to  $10^9$  UFC/g and Yeasts with number of  $10^6$  to  $10^8$  UFC/g. In this study, we isolated strains of *Lactobacillus* and *Pediococcus* and are tested for their antibacterial activity. We find a good antibacterial activity with 10 to 24 mm of diameter. Author tests were used to select a probiotic as the resistant to pH (1; 1,5; 2; 2,5 et 3) and bile (0,1; 0,3 et 0,5%). Mostly of strains were resistant to pH and bile. Antibiotic resistant was tested for strains of *Lactobacillus* and *Pediococcus*. These strains were sensitive for any antibiotic. Through these results, we selected strain S27 for rest of study. The *in vivo* study has demonstrated that administration of S27 in water ( $10^9$  UFC/g) for the first 4 weeks has show a reducer effect on the intestinal microflora of the chicken by reducing the total flora number but with the maintain of the lactic flora stable. This strain has also improved the zootechnic performance of the chicks with a better weight evolution in the presence of the probiotic strain ( $3246 \pm 356,99$ g) and a best average daily weight gain (50.84 g/day). No effect of this strain was detected following the histological analysis of the three poultry intestinal segments (duodenum, jejunum and ileum), which testify on its non-toxicity. So, we can use this strain as alternative to the use of antibiotic in poultry breeding.

**Key words:** Probiotic, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, chicken, *in vivo*, intestinal microflora.