

République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Faculté des Sciences Agrovétérinaire Et Biologie  
Département Vétérinaire  
Université SAAD DAHLAB. BLIDA

Mémoire De Fin D'étude En Vue De l'obtention du Diplôme de  
Docteur Vétérinaire

Thème

L'effet de la supplémentation en probiotique  
*Pediococcus acidilactici* sur l'histométrie intestinale  
du poulet de chair

Présenté par :

Date de soutenance : 10/07/2010

- MANSOUR Lamia

Devant le jury composé de :

- |                               |               |             |
|-------------------------------|---------------|-------------|
| • M <sup>r</sup> KELANAMEUR R | MAT USD Blida | Président.  |
| • M <sup>r</sup> AKLOUL K     | DV USD Blida  | Examineur.  |
| • M <sup>r</sup> DELLALI R    | DV USD Blida  | Examineur.  |
| • M <sup>me</sup> HAMMAMI N   | MAT USD Blida | Promotrice. |

Promotion : 2009-2010

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail tout d'abord à mes parents  
qui m'ont tout donné pour arriver à ce stade et qui m'ont soutenu pendant  
toutes mes études et ma vie.

A mes sœurs Malika, Wahiba, Saliha, Houria et Hannane.

A mes frères et à toute ma famille de près ou de loin.

A mes amis, ceux et celles qui m'ont connu et soutenu.

A ma chère Karima à qui j'ouvre grand mon cœur

A tous les étudiants de vétérinaire de la promotion :

2009/2010.

Lamia

## Remerciements

**Je tiens à remercier Dieu tout puissant de m'avoir donnée le courage et la patience de réaliser ce travail.**

**J'exprime mes profonds remerciements et mes vives reconnaissances à Dr. HAMMAMI Nabila pour avoir accepté de m'encadrer et de diriger ce travail.**

**Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude et de reconnaissance.**

**J'exprime mes remerciements aux honorables membres du jury :**

- ❖ M<sup>r</sup> KELANAMEUR d'avoir accepté de présider le jury de ce Mémoire.**
- ❖ M<sup>r</sup> AKLOUL et M<sup>r</sup> DELLALI d'avoir accepté d'examiner mon travail.**

**Je tiens à remercier tous mes enseignants et mes collègues du Département de Vétérinaire et toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.**

## Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer l'impact de la supplémentation alimentaire en *Pediococcus acidilactici* sur l'histométrie intestinales du poulet de chair. Durant 49 jours, 960 poussins sont répartis en 2 lots (8 répétitions de 60 poussins par traitement), nourris avec le même aliment de base supplémenté ou non avec  $10^9$  UFC de *Pediococcus acidilactici*/kg d'aliment. Quarante poulet ont été choisis ( $n=20$  par lot) pour réaliser des coupes histologiques au niveau de l'intestin dans les portions duodénales, iléales proximales et distales à j10, j28, et j49. Ces coupes sont photographiées, ensuite on a mesuré les hauteurs, les largeurs à la même hauteur afin de déterminer le volume intestinale.

Dans nos conditions expérimentales, l'addition du probiotique a permis d'augmenter significativement les hauteurs des villosités ( $P<0,001$ ), et les largeurs à la même hauteur au niveau des portions duodénales, iléales, proximales et distales. Ces résultats traduisent une meilleure assimilation des nutriments induite par la complémentation en probiotique qui pourrait s'expliquer par l'augmentation de la surface d'absorption intestinale induisant l'accroissement des volumes des villosités intestinales ( $P<0,001$ ) chez les poulets supplémentés comparés aux témoins.

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

**Mot clés:** Probiotique, *Pediococcus acidilactici*, Supplémentation, Poulet de chair, Histométrie intestinale.

## Summary

The purpose of this study is to assess the impact of dietary supplementation with *Pediococcus acidilactici* on the intestinal histometric broiler. During 49 days, 960 chicks were divided into 2 groups (8 repetitions of 60 chicks per treatment) fed the same staple food supplemented or not with  $10^9$  CFU of *Pediococcus acidilactici* / kg feed. Forty chickens were selected (n = 20 per batch) to make histological sections in the intestine in duodenal portions, proximal and distal ileum at D10, D28, and D49. ces sections are photographed, then were measured heights, widths to set up to determine the volume bowel.

In our experimental conditions, the addition of probiotics has increased significantly the height of the villi (P <0.001), and widths to set heights nival duodenal portions, proximal and distal ileum. These results reflect a better assimilation nutrient induced by probiotic supplementation could be explained by increased intestinal absorption surface induces an increase in the volume of intestinal villi (P <0.001) in chickens compared with cookies supplemented.

Our results show a definite impact of the probiotic *Pediococcus acidilactici* on the digestive and metabolic utilization of the food that deserves further studies to elucidate mechanisms of action.

**Key words:** Probiotic, *Pediococcus acidilactici*, supplementation, chicken meat, histometrical gut.

## المخلص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير مدى تأثير التكملة الغذائية بـ *Pediococcus acidilactici* على أبعاد النسيج المعوي لدجاج الاستهلاك. خلال 49 يوما، تم تقسيم 960 صوصا إلى مجموعتين (استبدل 60 صوصا ثمان مرات)، تحصل على نفس الغذاء الأساسي مدعم أو لا بـ  $10^9$  CFU من *Pediococcus acidilactici* /كغ من الغذاء. تم اختيار أربعين صوصا (20 من كل مجموعة) لانجاز مقاطع نسيجية معوية على مستوى: الأثني عشر، الصائم القريب وكذا البعيد وهذا في الأيام 10، 28 و49. هذه المقاطع تم تصويرها، ثم قياس طولها وعرضها عند منتصف الطول وهذا بهدف حساب حجمها المعوي.

وفق ظروفنا التجريبية فان إضافة المساعد الحيوي سمح بزيادة معتبرة لأطوال الزغابات المعوية ( $P < 0.001$ ) ولعرضها عند منتصف الطول على مستوى الأثني عشر، الصائم القريب والبعيد. هذه النتائج تترجم استيعابا أفضل للمغذيات بتحفيز من المساعد الحيوي، والتي يمكن تفسيرها بزيادة مساحة الامتصاص المعوي وبالتالي زيادة في حجم الزغابات المعوية ( $P < 0.001$ ) لدى دجاج الاستهلاك المدعم مقارنة بالشاهد.

تبين هذه التجارب تأثيرا أكيدا للمساعد الحيوي *Pediococcus acidilactici* على الاستعمال الهضمي و الأيضي للغذاء وهذا ما يستدعي دراسات معمقة لتوضيح آلية عمله.

الكلمات المفتاح: المساعد الحيوي، *Pediococcus acidilactici*، التكملة، دجاج الاستهلاك، أبعاد النسيج المعوي.

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> Composition de la microflore du poulet déterminé par dénombrement bactériens.....	4
<b>Tableau 2:</b> Métabolites majeurs produits par la microflore.....	5
<b>Tableau 3:</b> Les micro-organismes considérés comme probiotiques.....	11
<b>Tableau 4:</b> Classification de <i>P. acidilactici</i> .....	12
<b>Tableau 5:</b> Effet de la supplémentation en <i>Pediococcus acidilactici</i> sur les performances zootechniques de poulets de chair.....	20
<b>Tableau 6:</b> Principales caractéristiques des lots expérimentaux à la répartition.....	23
<b>Tableau 7:</b> Températures ambiantes (Ta) d'élevage durant l'essai.....	25
<b>Tableau 8:</b> Composition des aliments de base utilisés durant l'essai (en %).....	27
<b>Tableau 9 :</b> Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai.....	28
<b>Tableau 10 :</b> Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du duodénum proximal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en <i>P. acidilactici</i> (lot Probiotique) (Moyennes $\pm$ SE; n=20).....	32
<b>Tableau 11 :</b> Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du duodénum distal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en <i>P. acidilactici</i> (lot Probiotique) (Moyennes $\pm$ SE; n=20).....	35
<b>Tableau 12:</b> Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du l'iléon proximal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en <i>P. acidilactici</i> (lot Probiotique) (Moyennes $\pm$ SE; n=20).....	37
<b>Tableau 13:</b> Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du l'iléon distal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en <i>P. acidilactici</i> (lot Probiotique) (Moyennes $\pm$ SE; n=20).....	40

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> <i>P. acidilactici</i> (microscopie électronique).....	13
<b>Figure 2:</b> Schéma du protocole expérimental.....	24
<b>Figure 3:</b> Vues (extérieure et intérieure) du bâtiment d'élevage utilisé pour l'essai.....	25
<b>Figure 4:</b> Matériel d'alimentation utilisé (mangeoires 1er et 2ème âge).....	26
<b>Figure 5:</b> Matériel d'abreuvement utilisé (1er et 2ème âge).....	26
<b>Figure 6:</b> Mesure des dimensions des villosités intestinales (photo au microscope photométrique grossissement x10, 2009).....	31
<b>Figure 7:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>P. acidilactici</i> sur la hauteur des villosités du duodénum proximal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	33
<b>Figure 8:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>P. acidilactici</i> sur la largeur des villosités du duodénum proximal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	33
<b>Figure 9:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le volume des villosités du duodénum proximal ( $\text{mm}^3$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours .....	34
<b>Figure 10:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la hauteur des villosités du duodénum distal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	35
<b>Figure 11:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la largeur des villosités du duodénum distal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	36
<b>Figure 12:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur le volume des villosités du duodénum distal ( $\text{mm}^3$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	36
<b>Figure 13:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la hauteur des villosités du l'iléon proximal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	38
<b>Figure 14:</b> Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique <i>Pediococcus acidilactici</i> sur la largeur des villosités du l'iléon proximal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....	38



**Figure 15** : Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du l'iléon proximal (mm<sup>3</sup>) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....39

**Figure 16** : Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la hauteur des villosités du l'iléon distal (µm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....40

**Figure 17** : Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la largeur des villosités du l'iléon distal (µm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....41

**Figure 18** : Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du l'iléon distal (mm<sup>3</sup>) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours.....41

## Abréviations

<b>AGV</b>	: Acide Gras Volatile.
<b>CMV</b>	: Complément Minéral et vitaminique
<b>DD</b>	: Duodénum Distal
<b>DP</b>	: Duodénum Proximal
<b>GMQ</b>	: Grain Moyen Quotidien
<b>IC</b>	: Indice De Consommation
<b>ID</b>	: Iléon Distal
<b>IgA</b>	: Immunoglobuline A
<b>IgG</b>	: Immunoglobuline G
<b>IgM</b>	: Immunoglobuline M
<b>IP</b>	: Iléon Proximal
<b>ITELV</b>	: Institut Technique des Elevages
<b>n</b>	: Effectif ou taille de l'échantillon
<b>NK</b>	: Natural Killer
<b>ONAB</b>	: Office National Alimentation Du Bétail
<b>P</b>	: Lot Expérimentale.
<b>PV</b>	: Poids Vif
<b>SD</b>	: Déviation Standard
<b>SE</b>	: Erreur Standard
<b>T</b>	: Lot Témoin
<b>UFC</b>	: Unité Formant Colonies

# Sommaire

## Introduction générale

## Etude bibliographique

### **Chapitre 1: La microflore digestive du poulet**

I. Caractéristiques de la flore digestive des volailles.....	4
II. Impact de la microflore sur la physiologie digestive.....	5
II.1. Modifications anatomiques et physiologiques du tube digestif.....	6
II.2. Production et hydrolyse du mucus.....	6
II.3. Modification du transit intestinal.....	6
III. Impact de la microflore sur la digestion de l'aliment.....	7
IV. Rôle de la microflore sur la santé de l'hôte.....	8
IV .1. Stimulation du système immunitaire.....	8
IV .2. Protection contre les micro-organismes néfastes.....	8

### **Chapitre 2: Les Bactéries Lactiques Et Leurs Actions Probiotiques**

I. Généralités sur les probiotiques.....	10
I.1. Définitions.....	10
I.2. Les micro-organismes probiotiques.....	10
II. Propriétés générales des bactéries lactiques.....	11
II.1. Les bactéries lactiques.....	11
II.2. Propriétés de <i>Pediococcus acidilactici</i> .....	12
III. Mécanismes d'action des bactéries lactiques probiotiques.....	13
III.1. Inhibition des bactéries indésirables.....	14
III.1.1. Par le changement du PH intestinal.....	14
III.1.2. Par l'accumulation de métabolites primaires et secondaires.....	14
III.1.3. Par production des substances antimicrobiennes.....	14

III.1.4. Par effet barrière ou exclusion compétitive.....	15
III.2. Neutralisation des produits toxiques .....	15
III.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire.....	15
III.4. Effet sur la muqueuse intestinale.....	16
III.5. Stimulation de la réponse immunitaire.....	17
III.5.1. Effet des probiotiques sur l'immunité innée.....	18
III.5.2. Effet des probiotiques sur l'immunité adaptative.....	18
III.5.3. Effets sur le système immunitaire sécrétoire.....	19
IV. Efficacité zootechnique des lactobacilles probiotiques.....	19
IV.1. Efficacité zootechnique.....	19
IV.2. L'efficacité sanitaire des probiotiques.....	21

## **Matériel et méthodes**

I. Lieu de l'étude.....	23
II. Durée de l'étude.....	23
III. Animaux.....	23
IV. Traitement Expérimentaux .....	23
V. Bâtiment Et Conditions D'ambiance .....	24
• Le bâtiment d'élevage.....	24
• L'éclairage.....	25
• Les températures d'élevage.....	25
VI. Equipements D'élevage .....	26
VII. Aliments .....	27
VII.1. Les aliments de base.....	27
VII.2. Modalités de la supplémentation en probiotique.....	28
VIII. Plan de prophylaxie .....	28
IX. Mesures Réalisées.....	28
IX.1. Etude de la morphométrie intestinale.....	28

IX.1.1. Prélèvement des tissus à étudier.....	29
IX.1.2. Préfixation et fixation des tissus.....	29
IX.1.3. Phase de déshydratation et d'éclaircissement.....	29
IX.1.4. Inclusion et réalisation des coupes.....	29
IX.1.5. Fixation du tissu sur la lame et coloration.....	30
X. Analyse Statistique.....	31
<b>Résultats</b>	
I. Effet du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau du duodénum proximal .....	32
II. Effet du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau du duodénum distal .....	35
III. Effet du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau de l'iléon proximal .....	37
IV. Effet du Probiotique <i>P. acidilactici</i> sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau de l'iléon distal.....	40
<b>Discussion</b> .....	43
<b>Conclusion</b> .....	44
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

# Introduction Générale



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

Dans cette optique, l'usage de substances médicamenteuses, comme les antibiotiques, était effectué, dès les années cinquante, à des doses infra thérapeutiques, dans l'alimentation des animaux en tant que promoteurs de croissance (GOURNIER-CHATEAU, 1994). Toutefois, face aux inquiétudes des consommateurs et le risque potentiel d'antibiorésistance, d'autres voies de recherche ont été explorées, en l'occurrence celles des probiotiques qui rivalisent en ces temps modernes sérieusement avec les antibiotiques. Il devient urgent d'adopter un modèle d'une agriculture plus respectueuse de l'environnement et du citoyen (traçabilité des produits). La nature est avide et veut reprendre «ses droits » par l'emploi des probiotiques.

Les probiotiques sont des constituants alimentaires microbiens vivants qui exercent une action bénéfique pour la santé de l'homme et de l'animal. Les probiotiques ont fait leurs preuves en santé humaine. Ce succès indéfectible est l'œuvre de chercheurs tels que Pr. Jean François GUILLOT (université de tours) et au Pr. Daniel GRIESS dans des travaux relatifs à la comparaison des flores digestives des animaux domestiques.

L'activité avicole algérienne est un créneau sûr de production de viande blanche à très court terme et son extension vertigineuse exige de nous de nouveaux comportements. C'est pourquoi nous avons opté pour le choix de notre thème qui s'intitule: « L'effet de la supplémentation en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur l'histométrie intestinale du poulet de chair ». Notre objectif étant de préciser, dans nos conditions locales, l'intérêt d'une complémentation alimentaire en ce probiotique chez le poulet de chair sur les performances zootechniques dans, un premier temps est qui a fait objet d'un mémoire de magistère, ensuite ce mémoire qui vient compléter le travail en s'investissant sur l'histométrie intestinale par la réalisation de coupes histologiques, et l'analyse de coupes par un microscope photométrique muni d'un logiciel permettant de réaliser les mesures voulus.

Tout D'abord, une revue bibliographique détaillera, dans un premier chapitre, les caractéristiques et rôles de la microflore digestive du poulet. Par la suite, un deuxième chapitre sera consacré aux bactéries lactiques à action probiotique et principalement le *Pediococcus acidilactic*.



Une seconde partie, nous permettra d'argumenter l'intérêt de la mise en place d'une complémentation alimentaire en probiotique chez le poulet de chair à partir d'une expérimentation menée en conditions locales. Nous y étudierons l'effet de la supplémentation en *Pediococcus acidilactici* sur l'histométrie intestinale. Les méthodologies et les protocoles utilisés dans notre travail expérimental seront d'abord, globalement décrits, puis les résultats seront présentés et discutés. Dans la conclusion générale, nous ferons le point des idées acquises au cours de cette étude et présenterons les perspectives qui en découlent.



# Partie Bibliographique

## Chapitre 01 La Microflore Digestive Du Poulet

Il est bien connu que les animaux naissent axéniques, mais après un ou deux jours, s'installe une population microbienne spécifique pour chaque espèce animale, résultant du contact avec la mère et avec l'environnement dans lequel ils sont nés (GOURNIER *et al.*, 1994). La colonisation du tube digestif se fait selon des modèles distincts d'une espèce animale à l'autre (KEKESY et PIGET, 1970), mais de manière générale, les micro-organismes s'organisent sous la forme de populations en état d'équilibre, créant ainsi des habitats ou niches le long du tractus digestif. Ainsi, chaque compartiment du tube digestif est colonisé par différentes populations microbiennes. Chez les oiseaux, le tube digestif est aussi stérile à l'éclosion. L'inoculation naturelle se fait ensuite à partir de la flore des adultes ou de celle des aliments (CHAFAI, 2006). L'implantation de la flore dépend donc de l'environnement de l'œuf au moment de l'éclosion qui définit l'ordre dans lequel les animaux sont exposés aux microorganismes, de leur aptitude à coloniser l'intestin (besoin en nutriments, lieu de développement) et des interactions entre microorganismes (GABRIEL *et al.*, 2005).

La flore digestive des volailles a été très étudiée et s'avère différente de celle des mammifères, probablement du fait de différences anatomiques et physiologiques. Elle a été considérée jusqu'à présent comme jouant un rôle mineur comparativement à celle du colon des mammifères (GABRIEL *et al.*, 2003). Cette flore se trouve principalement dans le jabot et les caeca, mais également et en nombre plus réduit, dans l'intestin (GABRIEL *et al.*, 2005). Elle varie en fonction de l'animal, de son âge, de son environnement et de son alimentation. Elle induit la production de différents métabolites qui peuvent être utiles ou nuisibles à l'organisme hôte. Ses interactions avec la muqueuse intestinale sont à l'origine de nombreux changements de la structure et du fonctionnement du tube digestif (MALLET *et al.*, 2001).

## I. Caractéristiques de la flore digestive des volailles

D'une manière générale, la flore digestive, au sens large, comprend les organismes unicellulaires situés dans le tractus digestif, c'est-à-dire les bactéries, les champignons et les protozoaires.

Les populations bactériennes, qui sont les micro-organismes prédominants, représentent une large gamme de types métaboliques et morphologiques (LU et *al.*, 2003). Elles peuvent être divisées en trois groupes distincts: une **flore dominante** ( $> 10^7$  UFC/g contenu); une **flore sous-dominante** ( $10^5$  à  $10^3$  UFC/g) et une **flore résiduelle** ( $< 10^3$  UFC/g) (GABRIEL et *al.*, 2005).

Les données de microbiologie classique (cultures) ou moléculaire (clonage et séquençage) relatives à la composition de la flore le long du tube digestif du poulet (Tableau 1) indiquent globalement, qu'au niveau du jabot, sont retrouvées principalement des lactobacilles attachées à l'épithélium, des streptocoques et des levures (GABRIEL et *al.*, 2005). Dans l'intestin grêle, les bactéries anaérobies facultatives prédominent (lactobacilles, streptocoques et coliformes). Dans les caeca, les anaérobies stricts comme *Eubacterium*, des bifidobactéries et des clostridies deviennent majoritaires, même si des bactéries anaérobies facultatives sont aussi présentes.

**Tableau 1:** Composition de la microflore du poulet déterminé par dénombrement bactériens (SMITH, 1965) §

Groupes majoritaires	Nombre de bactéries viables ( $\log_{10}$ UFC / g de contenu)						
	Jabot	Gésier	Intestin 1 <sup>§§</sup>	Intestin 3	Intestin 5	Intestin 7	Caeca
<i>Lactobacilles</i>	8,7	7,3	8,0	8,2	8,2	8,6	8,7
<i>Streptocoques</i>	4,0	3,7	4,0	4,0	3,7	4,2	6,7
<i>Escherichia coli</i>	1,7	nd	2,0	1,7	1,7	2,7	5,6
<i>Levures</i>	2,7	nd	1,7	nd	1,7	nd	2,0
<i>Clostridium wel chi</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,7
<i>Bacteroides</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	8,7

UFC : Unité Format Colonie.

nd : Organisme non détecté, c'est-à-dire quantité dont le  $\log_{10}$  est inférieur à 1,7/g.

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

§§ : L'intestin a été divisé en 7 parties : différentes portions ont été étudiées (la 1<sup>re</sup>, la 3<sup>e</sup>, la 5<sup>e</sup> et la 7<sup>e</sup> partie).

Ainsi, chez le poulet, 29 genres bactériens ont été identifiés par les méthodes de culture conventionnelles. Chaque genre est représenté par 3 à 4 espèces, et chaque espèce par 3 à 4 types métaboliques différents, ce qui ferait au final plus de 200 types différents (GABRIEL *et al.*, 2005).

Au niveau du tube digestif, la flore digestive se localise dans la lumière intestinale, enfouie dans la couche de mucus ou adhérant à la muqueuse digestive, pouvant y former des couches de cellules très importantes (FULLER, 1989). La flore luminale dépend des nutriments disponibles, de la vitesse de transit et de la présence ou non de substances antimicrobiennes. La flore mucosale dépend de l'expression par l'hôte de sites d'adhésion spécifiques sur les membranes des entérocytes, de la vitesse de production de mucus, de la production d'anticorps sécrétoires, et de l'extrusion de matériel cellulaire de la membrane (GABRIEL *et al.*, 2005). Par ailleurs, de nombreux composés issus de la fermentation des aliments sont produits par la microflore digestive. Certains peuvent être bénéfiques et d'autres néfastes à l'hôte (Tableau 2).

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

Produits bénéfiques	Produits néfastes
Vitamines <sup>§</sup> , acides lactiques, bactériocines, métabolites de l'oxygène, peroxyde d'hydrogène, radicaux libres.	Acide cholique, enzymes déconjugant les sels biliaires, indole et scatole, mercaptan d'éthyle et de méthyle, endotoxines, entérotoxines, substances mutagènes et carcinogènes, oligopeptides potentiellement inflammatoires.
Produits à effets mixtes	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acides gras volatils : acétate, propionate, butyrate, isobutyrate, valérate, isovalérate.</li> <li>• Ammoniac</li> <li>• Amines (putrescine, spermidine, spermine, histamine)</li> </ul>	

<sup>§</sup> : Ne seraient pas disponibles pour l'animal, sauf l'acide folique.

## II. Impact de la microflore sur la physiologie digestive

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

## **II.1. Modifications anatomiques et physiologiques du tube digestif**

Les animaux conventionnels ont un intestin grêle plus lourd et plus long, ainsi qu'une paroi plus épaisse en comparaison avec les animaux axéniques (DENIS et *al.*, 2004). Cet épaissement est dû principalement aux tissus connectifs en particulier la *lamina propria* et au tissu lymphoïde. Les villosités intestinales sont également plus hautes dans le jéjunum et l'iléon et de forme moins régulière chez les oiseaux conventionnels comparés aux oiseaux axéniques. Les cryptes sont plus profondes tout le long de l'intestin grêle et le nombre de cellules en division est plus élevé, donnant un renouvellement cellulaire accéléré du duodénum distal à l'iléon. De même, les caeca des animaux conventionnels ont un poids relatif plus élevé et une paroi plus épaisse par rapport à ceux des animaux axéniques (GABRIEL et *al.*, 2005). Le développement plus important des tissus intestinaux serait induit par les différents métabolites produits par les bactéries tels que les acides gras volatils, l'ammoniac et les amines (GABRIEL et *al.*, 2005).

## **II.2. Production et hydrolyse du mucus**

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

## **II.3. Modification du transit intestinal**

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



### III. Impact de la microflore sur la digestion de l'aliment

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

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

Concernant la digestion des protéines, l'impact de la microflore sur leur digestibilité varie selon les études. Ceci est probablement lié aux différences de composition des régimes alimentaires utilisés dans les essais. D'une manière générale, la microflore pourrait avoir un rôle sur la digestibilité dans la mesure où elle augmente la production de protéines endogènes (mucus, débris cellulaire, biomasse microbienne). Elle aurait également un effet positif sur la digestion des protéines de mauvaise qualité qui sont mal hydrolysées par l'hôte et pourraient être digérées par la microflore. En revanche, dans le cas des protéines sévèrement modifiées par la chaleur, même la microflore ne pourrait les hydrolyser. Par ailleurs, la flore digestive semble jouer un rôle de conservation de l'azote : libération et recyclage de  $\text{NH}_3$  (GABRIEL *et al.*, 2005).

Pour la digestion des lipides, la flore digestive des oiseaux, comme chez tous les animaux, modifie largement les sels biliaires : déconjugaison, désulfatation et déhydroxylation. En outre elle participe à la saturation des acides gras polyinsaturés par hydrogénation (LARBIER et LECLERCQ, 1994).

La microflore agit également sur la nutrition minérale (GABRIEL *et al.*, 2005). Ainsi, elle a un effet négatif sur l'absorption ou le transport du calcium absorbé par les tissus intestinaux.

Elle induit une augmentation des besoins en magnésium et en phosphore. Elle diminue l'absorption du manganèse, mais n'a pas d'effet sur les autres oligoéléments tels que le cuivre, le zinc et le fer. En revanche, de par sa production d'AGV, la microflore facilite l'absorption des minéraux comme le sodium au niveau des caeca et du colon (GABRIEL *et al.*, 2005).

La flore bactérienne intestinale assure la synthèse de vitamines (CHAFAI, 2006). Ainsi, les vitamines hydrosolubles, surtout du groupe B, sont synthétisées en quantités appréciables par la flore bactérienne au niveau des cæcums du poulet (SOUILEM et GOGNY, 1994). En revanche, la vitamine K est produite en quantité insuffisante pour répondre aux besoins. En fait, toutes ces vitamines bactériennes seraient utilisées par elles-mêmes, sauf l'acide folique qui pourrait être disponible à l'hôte. Par ailleurs, en présence de flore, les besoins en vitamines, comme l'acide pantothénique seraient augmentés pour détoxifier les produits bactériens. La flore aurait aussi un impact négatif sur l'absorption des vitamines liposolubles qui nécessitent des acides biliaires (GABRIEL *et al.*, 2005).

## **IV. Rôle de la microflore sur la santé de l'hôte**

### **IV.1. Stimulation du système immunitaire**

La flore intestinale participe au développement et au maintien d'un système immunitaire intestinal efficace en influençant le nombre, la distribution et le degré d'activation des populations cellulaires qui le composent (SALMINEN *et al.*, 1998). Elle est le stimulus antigénique majeur responsable de la migration et de la maturation des cellules lymphoïdes précurseurs présentes dans les plaques de Peyer (GABRIEL *et al.*, 2005). Au niveau de la réponse immunitaire systémique, la flore serait responsable de l'évolution de la production d'IgM en IgG, ces derniers étant les anticorps les plus importants quantitativement. Ainsi, elle agit sur le développement et la maturation des plasmocytes producteurs d'IgA sécrétoires, ces derniers ayant comme fonction principale d'empêcher la fixation des pathogènes sur la muqueuse intestinale (CHAFAI, 2006).

### **IV.2. Protection contre les micro-organismes néfastes**

La flore autochtone empêche l'implantation de la flore pathogène. Ce phénomène, appelé « effet barrière », se met en place avant la maturité complète du système immunitaire du tube digestif. Les mécanismes impliqués sont variés. Certaines bactéries bénéfiques produisent des métabolites antimicrobiens tels que des acides gras à chaîne courte, des bactériocines ou des



métabolites de l'oxygène, créant ainsi un microenvironnement hostile aux autres espèces bactériennes. La flore bénéfique peut aussi modifier les récepteurs utilisés par les bactéries néfastes ou leurs toxines, empêchant ainsi leur développement dans le tube digestif. Elle intervient également par l'utilisation compétitive de nutriments essentiels (GABRIEL et *al.*, 2005).

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



## Chapitre 02

### Les Bactéries Lactiques Et Leurs Actions Probiotiques

## I. Généralités sur les probiotiques

### I.1. Définitions

Le terme **probiotique** a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. La notion de probiotique a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiâtes ou produisant des toxines (METCHNIKOFF, 1907). Une des premières définitions des probiotique comme « facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes » a été proposé par Lilly et Stillwell en 1965. Ensuite, Parker élargit cette définition à des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore » (PARKER, 1974). Cette définition inclut potentiellement des produits métaboliques microbiens y compris les antibiotiques. Plus tard, Fuller propose une définition très proche du sens actuel : « supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale » (FULLER, 1989). Par opposition aux précédentes définitions, la définition suivante introduit la notion de souche définie et caractérisée d'un point de vue taxonomique ainsi que la notion de quantité apporté à l'homme.

La FAO (Food and Agriculture Organization) et l'OMS (Organisation mondiale de la santé ; WHO) ont établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments (FAO / OMS, 2002) et formulent la définition suivante : micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère.

### I.2. Les micro-organismes probiotiques

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

**Tableau 3 : Les micro-organismes considérés comme probiotiques (BOUDJENAH, 2008)**

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

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

## II. Propriétés générales des bactéries lactiques

### II.1. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques se présentent le plus souvent sous la forme de coques ou de bacilles à Gram positif, non sporulés, non mobiles et dépourvus de cytochrome. Elles sont en outre résistantes à l'acide et aérotolérantes (aérobie facultatif) et ne produisent pas de catalase (AIT

BELGENAOUI, 2006). Concernant les produits métaboliques, le point commun de ces bactéries lactiques est leur capacité à produire de l'acide lactique suite à la fermentation des glucides. Elles peuvent être homofermentaires (70% du produit métabolique est de l'acide lactique) ou hétérofermentaires (50 % acide lactique complété par d'autres composés tels que l'acide acétique, le CO<sub>2</sub> ou l'éthanol) (AIT BELGENAOUI, 2006).

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

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

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

## II.2. Propriétés de *Pediococcus acidilactici*

C'est un microorganisme classé parmi les bactéries lactiques appartenant au genre *Pediococcus*. Sa classification est présentée dans le tableau 4. Il s'agit d'une bactérie coque gram + non sporulée (Figure 1) à croissance rapide, homofermentaire (production exclusive d'acide lactique) et capable de coloniser et d'acidifier rapidement le milieu.

**Tableau 4.** Classification de *P. acidilactici* (Source Internet n°1)

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



**Figure 1 :** *P. acidilactici* (microscopie électronique) (Source Internet n°2)

### **III. Mécanismes d'action des bactéries lactiques probiotiques**

D'une manière générale, le mode d'action des probiotiques reste encore imparfaitement élucidée et beaucoup d'hypothèses subsistent. Le probiotique est un complément alimentaire microbien vivant qui exerce une influence positive sur la santé en général et plus particulièrement sur la digestion en renforçant l'écosystème microbien car il est certain que leur cible est la flore intestinale (GOURNIER et *al.*, 1994). L'efficacité des probiotiques est liée à leur survie dans l'intestin et à la capacité de le coloniser ou s'y développer (NETHEWOOD et *al.*, 1999; ROLFE, 2000; GUILLOT, 2001; SIMON, 2005). Les mécanismes d'actions, bien qu'imparfaitement quantifiés sont qualitativement de plus en plus connus, vue que l'effet favorable des probiotiques peut résulter soit d'un effet nutritionnel direct soit d'un effet sanitaire.

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

**L'effet sanitaire** est lié à l'activation du système immunitaire, à la modification de la structure et des fonctions de l'épithélium intestinal et à la suppression ou l'élimination d'entéropathogènes (Source Internet n°3). Ainsi, les probiotiques peuvent exercer des effets directs sur le chyme, la flore (effets luminaux) ou au niveau des entérocytes ou des cellules immunocompétentes du GALT (effets pariétaux). Ils peuvent aussi avoir des effets indirects liés

aux modifications de l'écosystème ou du système immunitaire local (MARTEAU et RAMB, 1998). Ces effets bénéfiques dus à l'administration des probiotiques pourraient s'expliquer par plusieurs mécanismes:

### **III.1. Inhibition des bactéries indésirables**

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

#### **III.1.1. Par le changement du PH intestinal**

Il y'a une diminution du pH provoquée par la production d'acides organiques (l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique) à partir des glucides ingérés lors de la prise alimentaire, qui va aboutir à limiter le développement des *Escherichia coli* et des *Salmonelles*. De plus, l'acidification favorise le péristaltisme et la motilité intestinale qui a comme conséquence le raccourcissement du temps de transit des microorganismes pathogènes dans l'intestin donc réduction de leur croissance (CHAFAI, 2006).

#### **III.1.2. Par l'accumulation de métabolites primaires et secondaires**

La production de peroxyde d'hydrogène et le diacetyl freine la prolifération de certaines bactéries (SALMINEN, 1999; KREHBIEL et *al.*, 2003; AMROUCHE, 2005). Le peroxyde d'hydrogène est bactériostatiques de certaines espèces pathogènes comme certains champignons (*Candida albicans*) ou encore des bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas spp* et *Salmonella* (GOURNIER et *al.*, 1994).

Par ailleurs, certaines souches utilisées comme probiotiques possèdent la capacité de deconjuguer les sels biliaires. En effet les formes déconjuguées ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries que les formes conjuguées (BEZKOROVANY, 2001 ; MARTEAU, 2001).

#### **III.1.3. Par production des substances antimicrobiennes**

Les souches probiotiques pourraient également réprimer la croissance des bactéries pathogènes en produisant des peptides antimicrobiens (PERCIVAL, 1999; VAN BELKUM et STILES, 2000) de type bactériocine et reutein (CASAS et DOBROGOSZ, 2000; CALLAWAY et *al.*, 2003; FILHO et LIMA, 2005). Ces substances sont capables d'inhiber la prolifération des

germes fréquemment responsables d'infection en élevage. STROMPFOV et al (2003) ont isolé à partir du jabot, une souche d'*Enterococcus faecium* EF55 ayant des propriétés de production de bactériocine et inhibant des bactéries Gram positif (*Enterococci*, *Staphylococci*, *Lactococci*, *Streptococci*, *Lactobacilli*, *Micrococci*).

#### **III.1.4. Par effet barrière ou exclusion compétitive**

Les souches probiotiques semblent exercer un effet barrière en s'opposant à l'implantation des germes pathogènes, par l'adhésion aux récepteurs des cellules intestinales ce qui permettrait une colonisation rapide et dirigée du tube digestif (SOOMRO et al., 2002; CHANDRA, 2004 ; ZHANG, 2004; MOREIRA et al., 2005). L'exclusion compétitive des souches probiotiques serait aussi liée par la consommation des nutriments à la place des souches pathogènes. (SCHREZENMEIR et DEVRESE, 2001; FOOKS et GIBSON, 2002).

Mais bien que ce système antagoniste possède un large spectre d'action *in vitro*, il existe peu de preuves sur son efficacité *in vivo*.

#### **III.2. Neutralisation des produits toxiques**

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

#### **III.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire**

Les probiotiques permettraient une meilleure assimilation des aliments ingérés de manière indirecte en agissant sur la microflore intestinale ou au niveau des cellules épithéliales du tube digestif. Elles stimuleraient également les activités lactase, invertase et maltase des cellules épithéliales du tractus digestif.

Les probiotiques ont un effet modulateur sur certaines activités enzymatiques intestinales comme la *B-galactosidase* et la *B-glucuronidases* (GHADBAN, 2002 ; LEE et al., 2006), ce qui permet d'améliorer la digestibilité de nombreux nutriments en favorisant la dégradation



et l'absorption de certains aliments par la production d'enzymes digestives. Ainsi, *Lactobacillus* excrète une  $\beta$ -galactosidase, souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte, facilitant ainsi la digestion du lactose (SALMINEN et al., 1998 ; NETHEWOOD et al., 1999).

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

De plus, la digestibilité de la ration alimentaire est augmentée par la prédigestion des facteurs antinutritionnels tels que l'acide phytique et les glucosinates en substrats assimilables par l'hôte (HERZIG et al., 2003).

Enfin, de nombreuses bactéries utilisées comme probiotiques sont une sources de vitamines et de sels minéraux assimilables par l'organisme (CHOCT, 2001 ; GRAJEK et al., 2005).

#### **III.4. Effet sur la muqueuse intestinale**

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

Plusieurs probiotiques ont chez l'animal un effet favorable sur la fonction barrière de l'intestin, ils augmentent la résistance électrique transépithéliale de base, donc renforcent la barrière muqueuse et diminuent la perméabilité et le transport des macromolécules. Des travaux sont donc entrepris cherchant une efficacité clinique potentielle à des probiotiques dans des situations caractérisées par une inflammation intestinale ou une perméabilité intestinale accrue. A titre d'exemple, l'administration de *L. reuteri R2LC* et de *L. plantarum DSM 9843* à des rats présentant une entérocolite induite par méthotrexate diminuait la perméabilité intestinale, la translocation bactérienne et les concentrations plasmatiques d'endotoxines (MARTEAU et RAMB, 1998).

L'effet des probiotiques sur la barrière muqueuse non-immune semble être la conjonction d'effets modulateurs sur la quantité et la répartition des mucines, sur le maintien (structure, localisation, phosphorylation) des protéines du cytosquelette et des jonctions serrées



intercellulaires, donc sur la résistance électrique, la perméabilité, et les flux hydro-ioniques trans-épithéliaux et de la probable interface de ces effets avec le versant immune de la barrière muqueuse (adhérence bactérienne et interférence avec les pathogènes, translocation, réponse immune non-spécifique et de type humoral, interférence avec l' inflammation et réponse en cytokines) (LEAHY et al., 2005).

L'addition de *P. acidilactici* dans l'aliment a induit un accroissement de la longueur totale de l'intestin associée à une nette augmentation des dimensions des villosités mesurées dans les différents compartiments intestinaux et aux différentes phases de l'élevage. De tels résultats sont rapportées par AWAD et al (2009) chez des poulets supplémentés durant 35 jours en *Lactobacillus* sp. De même, CHICHILOWSKI et al (2007) montrent que la supplémentation alimentaire en *Bifidobacterium thermophilum* et *Enterococcus faecium* augmente la taille des villosités jéjunales. Des villosités iléales plus longues sont également observées chez des poulets reproducteurs adultes mâles supplémentés en *Bacillus subtilis* var. *natto* (SAMANYA et YAMAUCHI, 2002) et chez des poulets de chair après addition de *E. faecium* (SAMLI et al, 2007) ou de *Eubacterium* sp. (AWAD et al, 2006).

### III.5. Stimulation de la réponse immunitaire

La stimulation du système immunitaire de l'hôte demeure un aspect très important dans le développement du concept «probiotique ». Selon la littérature, les probiotiques ont des effets positifs sur l'homéostasie du système immunitaire sans induction d'effets négatifs, comme l'allergie ou les réponses auto-immunes. En effet, des travaux rapportés dans la littérature suggèrent que certaines souches à fort potentiel probiotique sont capables de stimuler certaines fonctions immunitaires notamment lors d'infection bactérienne ou virale. Ainsi, grâce à leurs composants intra ou extracellulaires actifs, les probiotiques sont capables d'influencer le système immunitaire par contact avec les cellules immunocompétentes, en transmettant des signaux qui modifient la réponse immunitaire de l'organisme-hôte. Aussi, une amélioration de la protection de l'organisme suite à la consommation de produits fermentés laisse suggérer qu'il existe une relation directe entre les probiotiques et les systèmes immunitaires inné et adaptatif qui réagissent d'une manière simultanée et coordonnée.

D'une manière générale, le système immunitaire répond par deux types de mécanismes: l'immunité non spécifique (ou naturelle ou innée) et l'immunité spécifique (ou acquise ou





adaptative) impliquant des facteurs cellulaires et humoraux qui régulent la réponse à l'antigène. Les cellules du système immunitaire inné permettent l'initiation de la réponse immunitaire de l'hôte et l'orientation du système immunitaire adaptatif par la production des facteurs nommées cytokines (ERICKSON et HUBBARD, 2000).

### **III.5.1. Effet des probiotiques sur l'immunité innée**

L'immunité innée utilise essentiellement des mécanismes visant à éliminer de façon rapide et non spécifique des microorganismes pathogènes par les phagocytes ou à éliminer des molécules du non-soi par la stimulation de l'activité des lymphocytes natural killer (NK). Les probiotiques stimulent la phagocytose par l'activation des macrophages qui reconnaissent et détruisent les antigènes (BOLE et THOMANN, 2005).

### **III.5.2. Effet des probiotiques sur l'immunité adaptative**

L'immunité adaptative est une réponse spécifique d'un antigène exogène donné, faisant intervenir les lymphocytes B producteurs d'anticorps protecteurs et les lymphocytes T qui participent à la différenciation des lymphocytes B et détruisent les cellules abritant des germes par l'intermédiaire de substances chimiques telles que les interleukines. Cette immunité spécifique peut être locale pour la protection de la muqueuse intestinale (IgA), ou périphérique (IgG, IgM) pour une réponse plus générale de l'organisme. Un avantage déterminant de l'immunité adaptative est l'établissement d'une mémoire immunitaire, permettant de développer des réponses plus intenses et plus précises vis à vis des agresseurs microbiens lorsque les contacts se répètent, réduisant ainsi la morbidité et la mortalité (Source Internet 4).

De nombreuses études ont en effet rapporté que la prolifération des lymphocytes et la production de cytokines par les cellules du système immunitaire peuvent être sensiblement modifiées par l'ingestion de probiotiques. Selon la nature de leurs constituants cellulaires, les probiotiques influencent sélectivement la fonction immunitaire en induisant la réponse humorale, cellulaire ou non spécifique. Les probiotiques ont aussi la propriété de réduire ou supprimer la réponse immunitaire induites par les ingrédients alimentaires en induisant la tolérance orale et prévenant les allergies (PRIOULT et *al.*, 2003; TANAKA et ISHIKAWA, 2004).

### **III.5.3. Effets sur le système immunitaire sécrétoire**

Lorsque des antigènes infectieux (antigènes bactériens ou viraux) pénètrent par voie orale, une réponse IgA sécrétoire est induite visant à inhiber l'adhésion et bloquer l'entrée des agents pathogènes dans la muqueuse intestinale. Il a donc été suggéré que l'administration de probiotiques pourrait être utilisée pour activer l'immunité sécrétoire. Cependant, une augmentation des IgA ne veut pas dire nécessairement effet bénéfique sur la santé sauf dans les modèles infectieux.

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

## **IV. Efficacité zootechnique des lactobacilles probiotiques**

### **IV.1. Efficacité zootechnique**

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

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

L'utilisation du *Pediococcus acidilactici* comme probiotique tend à améliorer significativement le poids vif et l'indice de conversion du poulet de chair (CHAFAI, 2006 ; SIMON et *al.*, 2001). Des essais réalisés chez le poulet de chair (Tableau 5) montrent une augmentation du poids vif final d'environ 4,7% et une amélioration l'indice de conversion (IC) d'environ 5% avec une dose de  $10^9$  UFC /kg d'aliment (LAN, 2005).

**Tableau 5 :** Effet de la supplémentation en *Pediococcus acidilactici* sur les performances zootechniques de poulets de chair (Adapté de LAN, 2005)

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

§ Gain moyen quotidien

L'effet positif de l'addition de *P. acidilactici* dans la ration des poulets de chair sur la croissance a été aussi rapporté dans d'autres études (JIN *et al.*, 1998; SIMON *et al.*, 2001 ; VAN EYS et DEN HARTOG, 2003). Ainsi, dans l'essai de VITTORIO *et al* (2005), l'administration continue de *P. acidilactici* aux poulets de chair a amélioré la croissance des males et des femelles : le poids vif des femelles supplémentées, mesuré à 35 jours a augmenté significativement de 6% (P=0,01) par rapport aux témoins recevant un aliment standard. Celui des males, mesuré a l'âge de 55 jours, augmente aussi de 3% (P<0,01) dans ces mêmes conditions. L'indice de consommation a été réduit pour les deux sexes à 35jours d'âge pour les poulets supplémentés : 1,60 contre 1,63 pour les lots témoins. L'IC des males a 55 jours d'âge est également amélioré (1,82 vs 1,88 chez les témoins).

## IV.2. L'efficacité sanitaire des probiotiques

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

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

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

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

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

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

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

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

De la même manière, l'addition de *Pediococcus acidilactici* chez des poulets infectés par *Escherichia coli* O142 à la dose de 10<sup>5</sup>UFC/oiseau et de *Salmonella typhimirium* à l'âge de 28



jours, induit une réduction du taux de mortalité. Dans ces même conditions, les lésions histopathologiques du cœur, du foie et de la rate étaient significativement moins importantes (AWAAD *et al.*, 2005).

***En conclusion de cette partie bibliographique...***

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

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

# Matériel et Méthodes



L'objectif de cet essai est d'évaluer l'impact d'une complémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la morphométrie intestinale du poulet de chair élevé dans nos conditions locales.

**I. Lieu de l'étude :** Notre essai a été effectué au niveau de la station expérimentale « Monogastrique » de l'Institut Technique des Elevages (ITELV) de Baba –Ali, Alger. Les coupes histologiques ont été effectuées au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de ENSV d'El Harrach.

**II. Durée de l'étude :** Il s'est déroulé du 08 Avril 2009 au 26 Mai 2009, soit une durée de 49 jours d'élevage et la réalisation des coupes histologiques ainsi que leurs analyses c'est faite durant la période de mois de décembre 2009.

### III. Animaux :

Neuf cent soixante (960) poussins d'un jour de souche ISA 15 Hubbard, provenant du même couvoir, sont triés, pesés et répartis en deux groupes de poids homogène (n=480), en excluant les individus trop lourds ou trop chétifs. Chaque groupe est ensuite divisé de manière aléatoire en 8 lots de 60 sujets (60 poussins par parquet), soit une densité de 11,38 sujets/m<sup>2</sup>. Les caractéristiques de chaque lot expérimental sont récapitulées dans le tableau 6. Une étude histométrique de l'intestin a été réalisée à j10, j28 et j49 sur à chaque fois 20 poulets témoins et 20 poulets supplémentés en probiotique, ayant un poids vif représentatif de leur lot.

**Tableau 6 :** Principales caractéristiques des lots expérimentaux à la répartition (J0).

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

§ Moyennes ± SE

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

### IV. Traitement Expérimentaux :

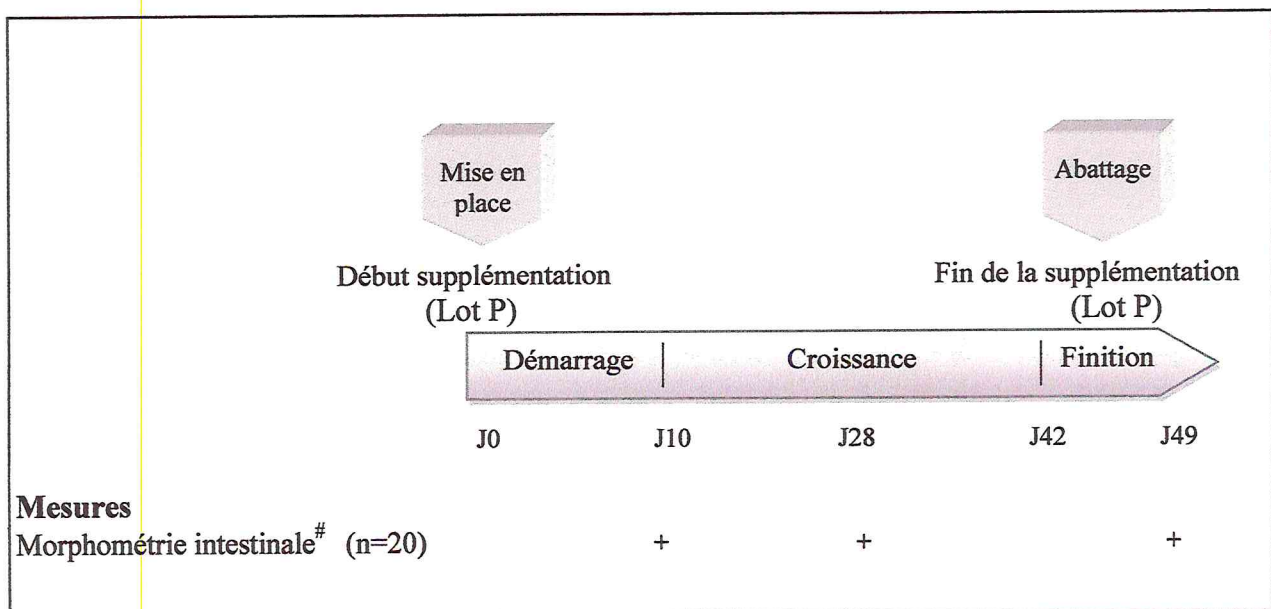
Deux traitements ont été comparés dans cette étude :



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

La supplémentation alimentaire en probiotique couvre tout le cycle d'élevage de la bande (c'est-à-dire de J 0 à J 49). Son impact est évalué sur l'évolution des paramètres de la morphométrie intestinale.

Le dispositif expérimental et les mesures effectuées sont récapitulés dans le schéma suivant (Figure 2).



# : Mesures individuelles.  
n : nombre de répétitions.

Figure 2 : Schéma du protocole expérimental.

## V. Bâtiment et conditions d'ambiance :

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

**Le bâtiment d'élevage :** Le bâtiment utilisé est de type obscur à ambiance contrôlée et de superficie égale à 296,1m<sup>2</sup> (32,9m x 9m). Il est divisé en deux blocs de 36 parquets de 5,27m<sup>2</sup> de surface chacun, disposés de part et d'autre d'un couloir central de 2,2m de large et d'un SAS. Ce



dernier, sert de lieu de stockage d'aliment et est équipé d'une citerne d'eau et d'une boîte de contrôle des conditions d'ambiance (température et ventilation) et des humidificateurs (Figure 3).



**Figure 3:** Vues (extérieure et intérieure) du bâtiment d'élevage utilisé pour l'essai (Photo personnel, 2009)

La ventilation est dynamique, assurée par des clapets pour l'entrée d'air et l'extraction des gaz est faite par cinq extracteurs (3 petits et 2 grands).

Le chauffage du bâtiment se fait par des radiants. L'éclairage est assuré par 8 néons (1 pour 2 parquets) et 1 lampe par parquet.

**L'éclairage :** Est de 24 heures avec une intensité de  $3 \text{ watt/m}^2$ , durant toute la période de l'essai.

**Les températures d'élevage :** Sous radiant et ambiante, sont prélevées chaque jour durant les premières semaines de l'essai. Par la suite, seule la température ambiante est notée (Tableau 7).

**Tableau 7 :** Températures ambiantes ( $T_a$ ) d'élevage durant l'essai.

	S1 <sup>§</sup>	S2	S3	S4 & S5	S6 & S7
<b>T (C°)</b>	32-34	30-32	26-29	24-25	20-22

§ S : Semaine d'âge.

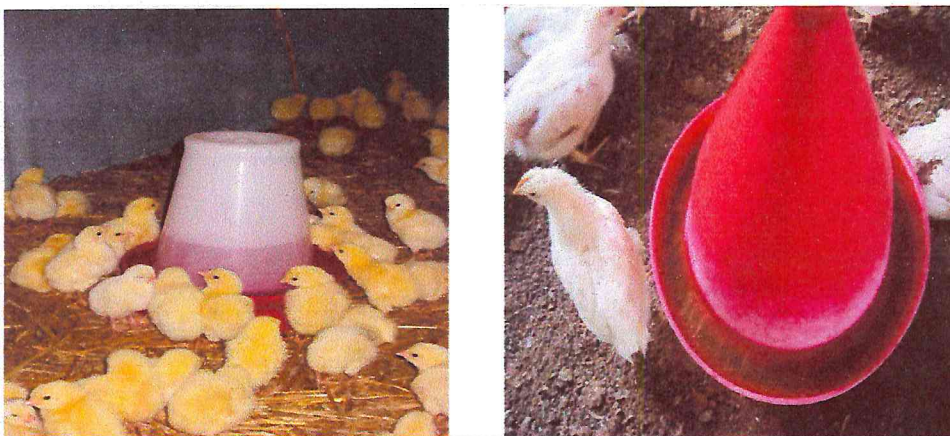
## VI. Equipements D'élevage :

- Le matériel d'alimentation est adapté à l'âge des animaux à savoir :
  - Des assiettes en plastique pendant les 6 premiers jours.
  - Des mangeoires linéaires à partir du 7<sup>ème</sup> jour jusqu'au 11<sup>ème</sup> jour.
  - Des mangeoires 2<sup>ème</sup> âge du 11<sup>ème</sup> jour jusqu'à l'abattage correspondant à des trémies suspendues dont la hauteur est réglable selon la taille des poulets (Figure 4).



**Figure 4 :** Matériel d'alimentation utilisé (mangeoires 1er et 2<sup>ème</sup> âge) (Photo personnel, 2009)

- Au premier âge, le type d'abreuvoirs est siphonide, à remplissage manuel, a partir du deuxième âge l'abreuvement est assuré par des abreuvoirs, à remplissage automatique (Figure 5). Durant toute la période d'élevage, l'eau est fournie *ad libitum*.



**Figure 5 :** Matériel d'abreuvement utilisé (1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> âge) (Photo personnel, 2009)



- L'élevage est mené au sol cimenté sur litière en paille épandue sur une épaisseur de 15cm. la litière n'a pas été changée mais des rajouts ont été effectués pour l'ensemble des parquets.
- L'éclairage est assuré par des ampoules de 3watt/m2.

## VII. Aliments :

### VII.1. Les aliments de base :

Les poulets des deux lots ont reçu les mêmes aliments de base, sous forme de farine et fabriqués par l'ONAB, supplémentés (lot Probiotique) ou non (lot Témoin) avec le probiotique.

Les trois aliments de base utilisés correspondent à chaque période d'élevage :

- Aliment « **Démarrage** » distribué entre J1 et J10.
- Aliment « **Croissance** » distribué entre J11 et J42.
- Aliment « **Finition** » distribué entre J43 et J49.

La composition et les caractéristiques de chaque aliment sont présentées ci-dessous (Tableau 8). Durant toute la période d'élevage, l'aliment et l'eau de boisson sont fournis *ad libitum*.

**Tableau 8:** Composition des aliments de base utilisés durant l'essai (en %).

	Aliment Démarrage	Aliment Croissance	Aliment Finition
Maïs	61,60	64,10	60,80
Son de blé	6,6	4	6,00
Tourteau de soja	27,5	28	24,5
Calcaire	1,1	1,00	0,9
PBC	2,2	1,90	1,00
CMV D-C	1,00	1,00	-
CMV F	-	-	1,00
Caractéristiques (valeurs calculées)			
Energie Métabolisable (kcal/kg)	2800	2900	2930
Protéines brutes (%)	21	19	17

**PBC** : Phosphate bicalcique.

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

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



## VII.2. Modalités de la supplémentation en probiotique :

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

## VIII. Plan de prophylaxie :

Le protocole sanitaire suivi lors de notre essai est présenté dans le tableau 9. Il est à noter qu'un antistress est administré 24 heures avant, pendant et après chaque acte vaccinal. Toutes les vaccinations sont administrées *per os* (dans l'eau de boisson).

Tableau 9 : Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai.

Age (jours)	Vaccinations & Traitements
2 <sup>ème</sup> J	Vaccination contre la maladie de Newcastle (souche HB1)
7 <sup>ème</sup> J	Vitamine AD3E + Vitamine C
14 <sup>ème</sup> J	Vaccination contre la maladie de Gumboro (souche D78)
21 <sup>ème</sup> J	Rappel de vaccination contre la maladie de Newcastle (souche la Sota)

## IX. Mesures Réalisées

### IX.1. Etude de la morphométrie intestinale :

Les dimensions des villosités intestinales ont été mesurées sur des poulets témoins et ceux supplémentés en probiotique et ce à trois âges différents : à J10, J28 et J49.

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



Pour ce faire, à chaque âge, 20 animaux ayant des poids représentatifs de leur lot expérimental sont sacrifiés par saignée. L'intestin est prélevé dans sa totalité, de sa jonction avec le gésier jusqu'au côlon et étiré. Les 2 cæca sont détachés au niveau de la jonction iléo-cæcale. Les 3 portions (intestin et les 2 cæca) sont alors juxtaposées et mesurées. La valeur obtenue représente la longueur totale de l'intestin.

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

#### **IX.1.1. Prélèvement des tissus à étudier**

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

#### **IX.1.2. Préfixation et fixation des tissus**

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

#### **IX.1.3. Phase de déshydratation et d'éclaircissement**

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

#### **IX.1.4. Inclusion et réalisation des coupes**

Suite aux 12 heures d'éclaircissement, chaque portion de tissu est placée au milieu du creux d'un moule (barres de Leuckhart) puis recouverte avec une cassette à inclusion. De la



paraffine liquide est versée sur cette dernière. Après durcissement, un block de paraffine est obtenu, puis placé dans un microtome en vue de réaliser des coupes de 5µm d'épaisseur.

#### **IX.1.5. Fixation du tissu sur la lame et coloration**

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

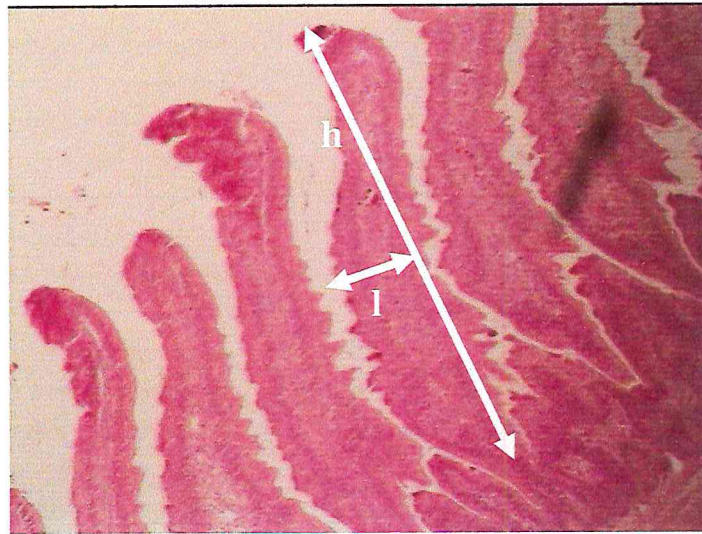
- ✓ Deux bains de Toluène de 5 min chacun en vue de déparaffiner le tissu
- ✓ Trois bains d'alcool, le premier absolu, le deuxième à 90° et le dernier à 70°, pendant 3min chacun
- ✓ Un lavage à l'eau du robinet pendant 2min
- ✓ Une coloration à l'hémalum pendant 45s à 1min
- ✓ Un rinçage à l'eau du robinet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

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

Pour chaque coupe histologique (au totale de 480 coupes histologiques) nous avons calculé des dizaines de villosités et nous avons fait leurs moyennes. Pour calculer le volume (considérées comme des cylindres selon les travaux de chewlowski, 2007) ), la formule suivante a été appliquée :



Volume ( $\mu\text{m}^3$ ) =  $3,14 \times (l/2)^2 \times h$   
l : largeur à mi-hauteur de la villosité  
h : hauteur de la villosité



**Figure 6** : Coupe transversale au niveau de l'intestin grêle (iléon) du poulet de chair (photo au microscope photométrique grossissement x10, 2009).

## X. Analyse Statistique

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

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

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

# Résultats



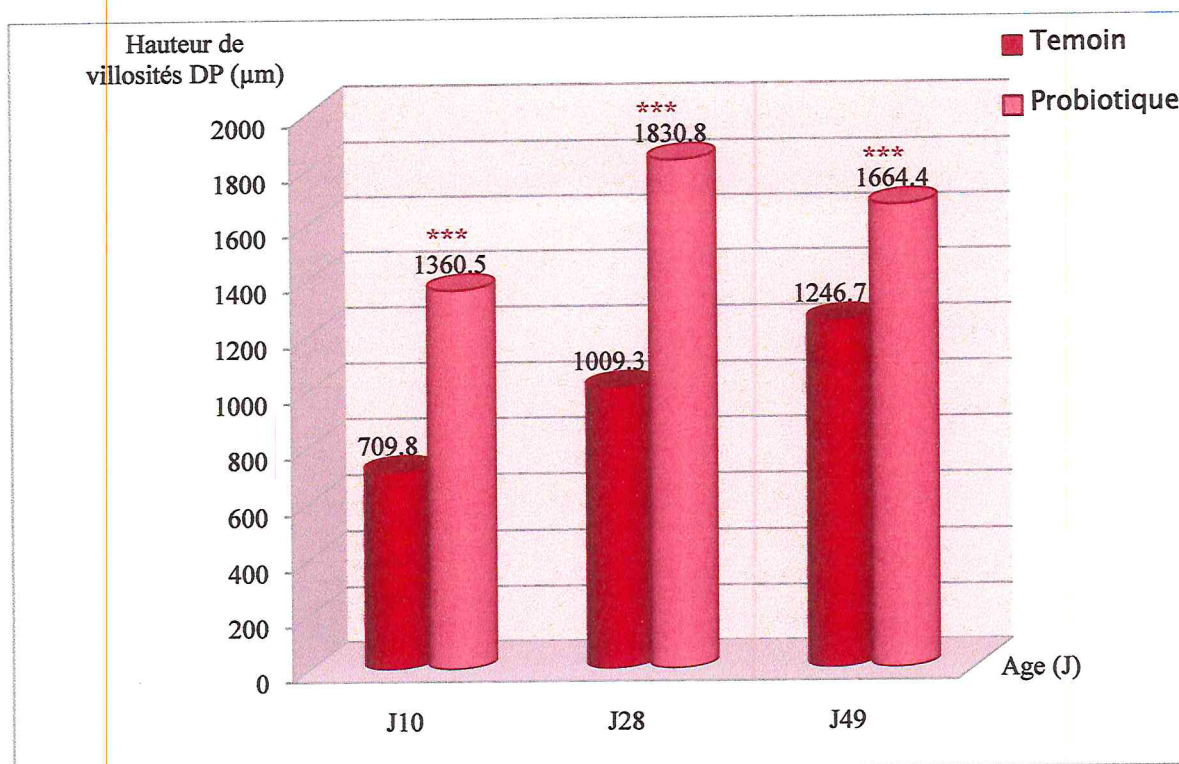
## I. Effet du Probiotique *P. acidilactici* sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau du duodénum proximal :

Les dimensions des villosités intestinales, enregistrées au niveau de duodénums proximales à J10, J28 et J49 sont reportées sur le tableau 10.

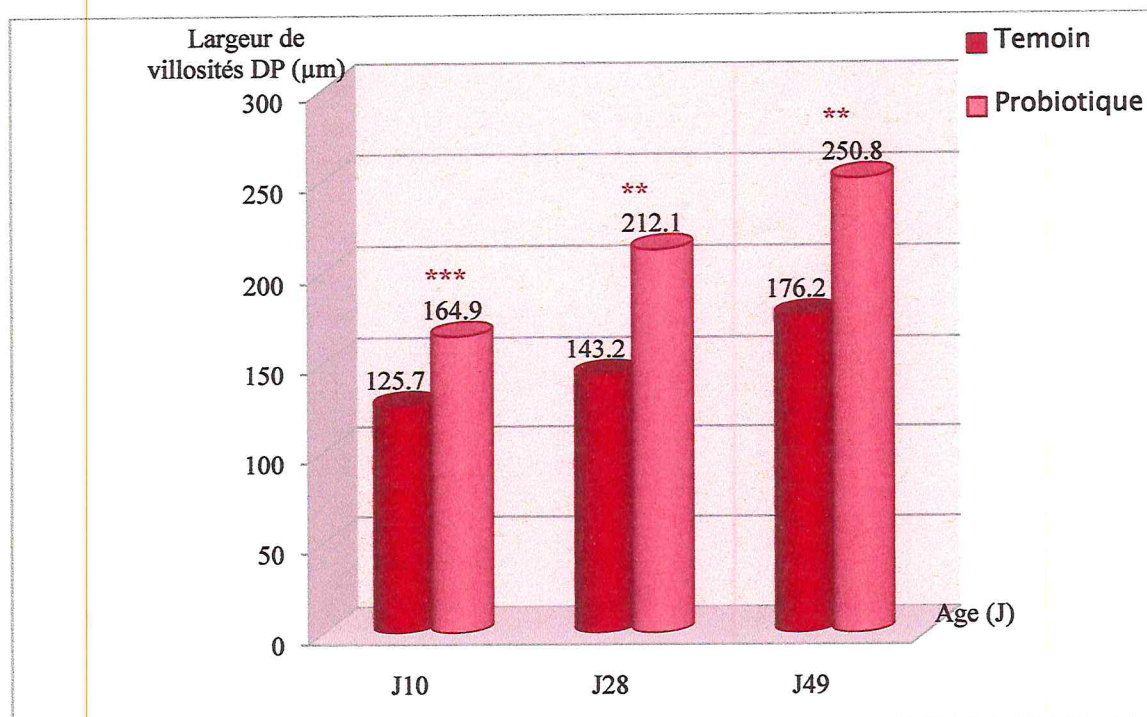
**Tableau 10 :** Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du duodénum proximal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en *P. acidilactici* (lot Probiotique) (Moyennes  $\pm$ SE; n=20).

	Age (J)	Lot Témoin	Lot Probiotique	ANOVA (p=)
Hauteur des villosités intestinales ( $\mu$ m) Au niveau du duodénum proximal	J10	709,8 $\pm$ 29,5	1360,5 $\pm$ 23,5	***
	J28	1009,3 $\pm$ 35,8	1830,8 $\pm$ 44,3	***
	J49	1246,7 $\pm$ 30,9	1664,4 $\pm$ 55,5	***
Largeur des villosités ( $\mu$ m) intestinales Au niveau du duodénum proximal	J10	125,7 $\pm$ 5,9	164,9 $\pm$ 7,4	***
	J28	143,2 $\pm$ 9,8	212,1 $\pm$ 10,6	**
	J49	176,2 $\pm$ 8,9	250,8 $\pm$ 15,3	**
Volume des villosités ( $\text{mm}^3$ ) intestinales Au niveau du duodénum proximal	J10	0,009 $\pm$ 0,001	0,029 $\pm$ 0,002	***
	J28	0,016 $\pm$ 0,0014	0,064 $\pm$ 0,007	***
	J49	0,030 $\pm$ 0,003	0,082 $\pm$ 0,008	***

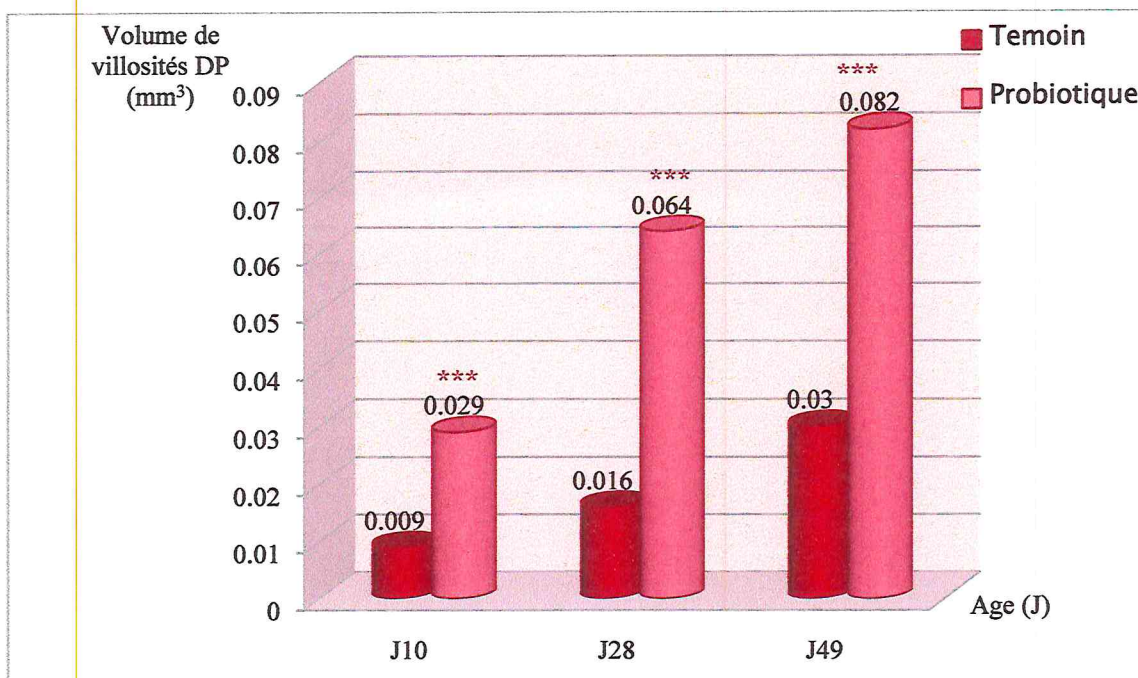
\*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001.



**Figure 7 :** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *P. acidilactici* sur la hauteur des villosités du duodénum proximal (µm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes ± SE ; n=20 ; \*\*\* P<0,001).



**Figure 8 :** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *P. acidilactici* sur la largeur des villosités du duodénum proximal (µm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes ± SE ; n=20 ; \*\* P<0,01 ; \*\*\* P<0,001).



**Figure 9** : Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du duodénum proximal (mm<sup>3</sup>) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes  $\pm$  SE ; n=20; \*\*\* P<0,001).

Au niveau du duodénum proximal, la hauteur moyenne des villosités chez les animaux supplémentés est presque deux fois plus grande que celle enregistrée chez les témoins, et ce quelque soit l'âge des poulets : augmentation très significatives à J10 (+91% ; P<0,001), J28 (+82% ; P<0,001) et à J49 (+34% ; P<0,001) (Figure 7).

Les largeurs à la mi hauteur des villosités enregistrées sont également nettement augmentées après supplémentation aux trois dates de mesures : +32% à J10 (P<0,001), +49% à J28 (P<0,01) et +43% à J49 (P<0,01) (Figure 8).

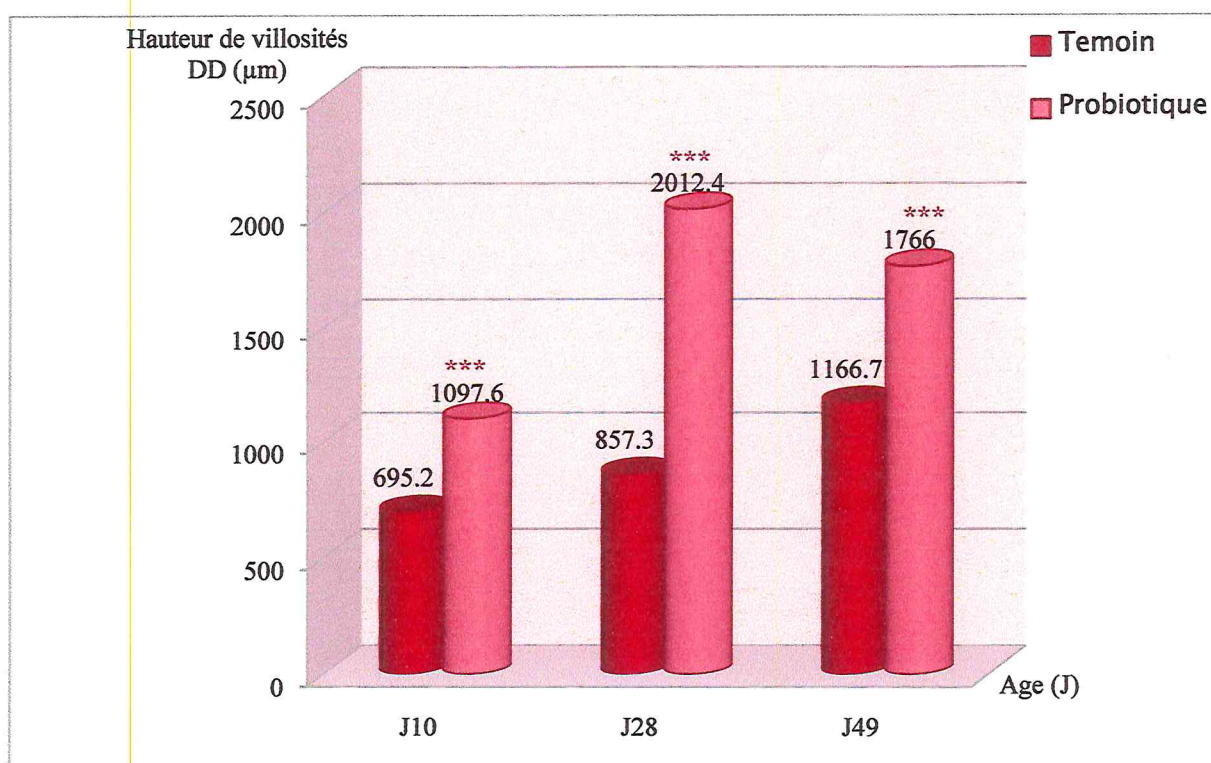
Le volume des villosités est 3 à 4 fois plus grand chez les poulets supplémentés en probiotique que ceux mesurés chez les témoins (P<0,001) et ce aussi bien à J10 (+222%), qu'à J28 (+299%) ou J49 (+173%) (Figure 9).

## II. Effet du Probiotique *P. acidilactici* sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau du duodénum distal :

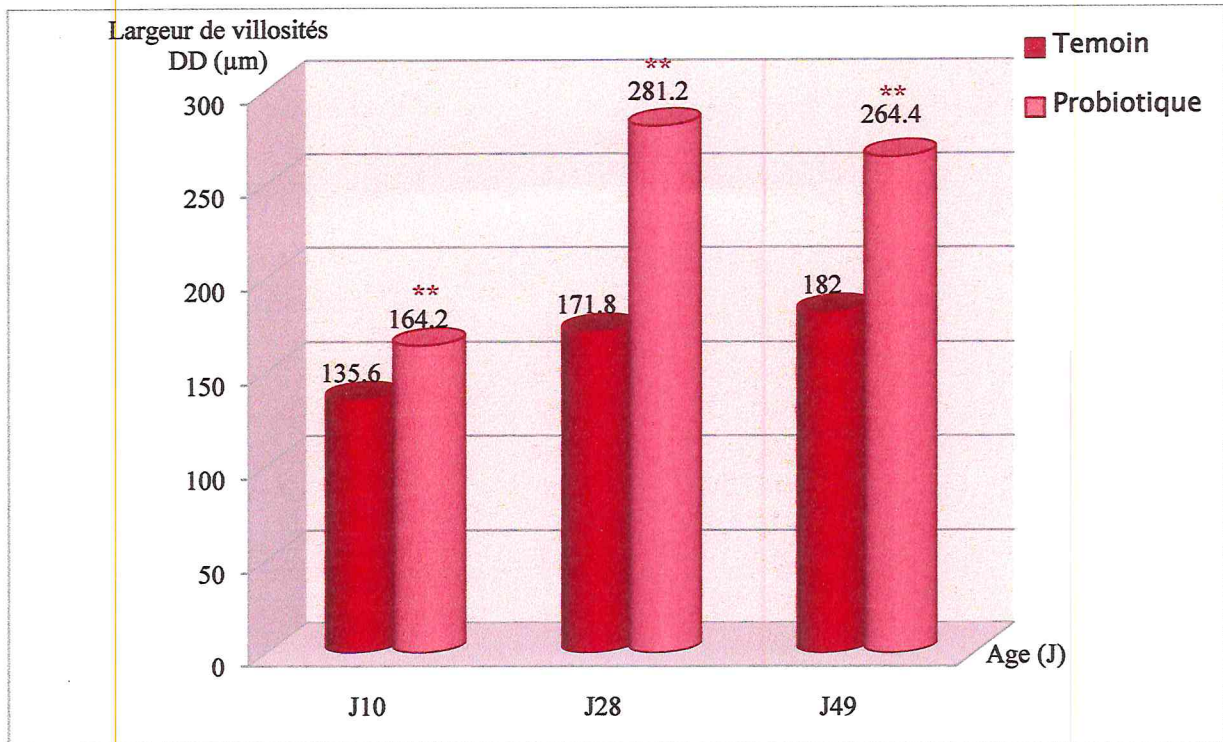
**Tableau 11** : Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du duodénum distal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en *P. acidilactici* (lot Probiotique) (Moyennes  $\pm$ SE; n=20).

	Age (J)	Lot Témoin	Lot Probiotique	ANOVA (p=)
Hauteur des villosités intestinales ( $\mu\text{m}$ ) Au niveau du duodénum distal	J10	695,2 $\pm$ 36,8	1097,6 $\pm$ 26,0	***
	J28	857,3 $\pm$ 33,6	2012,4 $\pm$ 20,1	***
	J49	1166,7 $\pm$ 12,9	1766,0 $\pm$ 39,4	***
Largeur des villosités ( $\mu\text{m}$ ) intestinales Au niveau du duodénum distal	J10	135,6 $\pm$ 5,6	164,2 $\pm$ 5,8	**
	J28	171,8 $\pm$ 10,0	281,2 $\pm$ 11,9	**
	J49	182 $\pm$ 8,1	264,4 $\pm$ 8,8	**
Volume des villosités ( $\text{mm}^3$ ) intestinales Au niveau du duodénum distal	J10	0,010 $\pm$ 0,001	0,023 $\pm$ 0,002	***
	J28	0,020 $\pm$ 0,002	0,125 $\pm$ 0,010	**
	J49	0,030 $\pm$ 0,003	0,097 $\pm$ 0,007	***

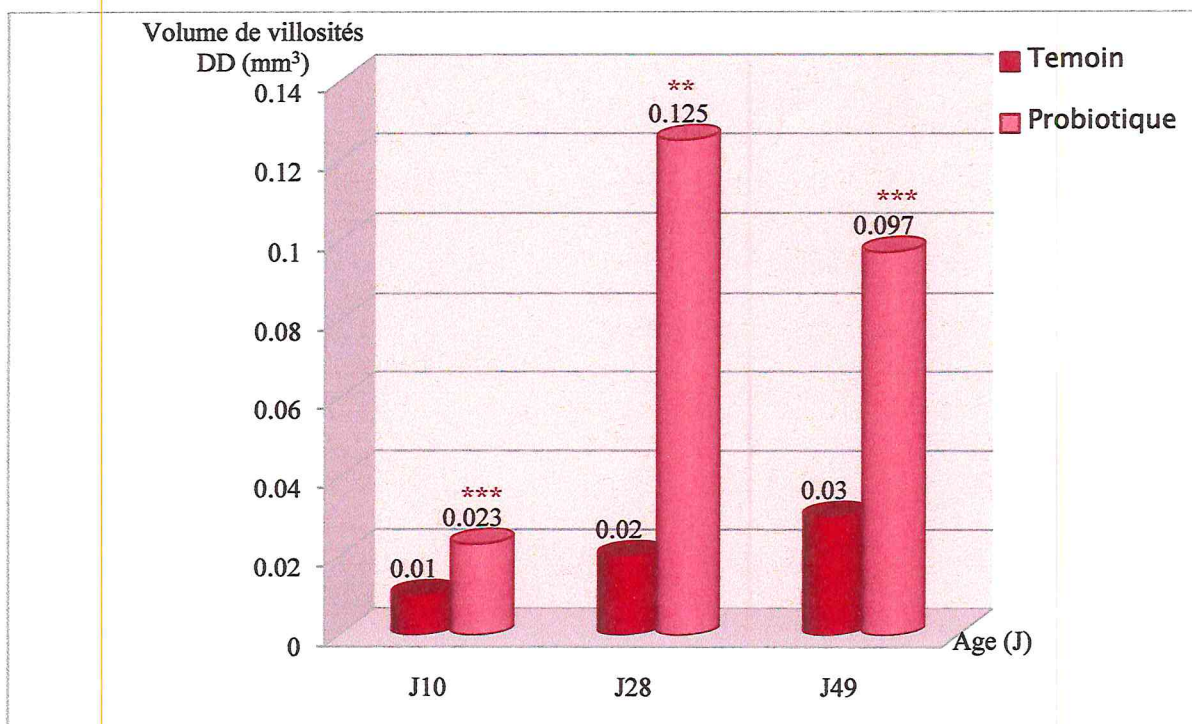
\*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001.



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



**Figure 11:** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la largeur des villosités du duodénum distal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes  $\pm$  SE ;  $n=20$  ; \*\*  $P<0,01$ ).



**Figure 12:** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du duodénum distal ( $\text{mm}^3$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes  $\pm$  SE ;  $n=20$  ; \*\*\*  $P<0,001$ , \*\*  $P<0,01$ ).

Au niveau du duodénum distal, les hauteurs des villosités enregistrées sont également nettement augmentées après supplémentation aux trois dates de mesures : +58% à J10 ( $P<0,001$ ), +134% à J28 ( $P<0,001$ ) et +51% à J49 ( $P<0,001$ ) (Figure 10).

La largeur moyenne des villosités est aussi significativement supérieure chez le lot supplémenté en *P. acidilactici* comparé au témoin et ce à l'âge de 10 jours (+22% ;  $P<0,01$ ), de 28 jours (+64% ;  $P<0,01$ ) et 49 jours (+46% ;  $P<0,01$ ).

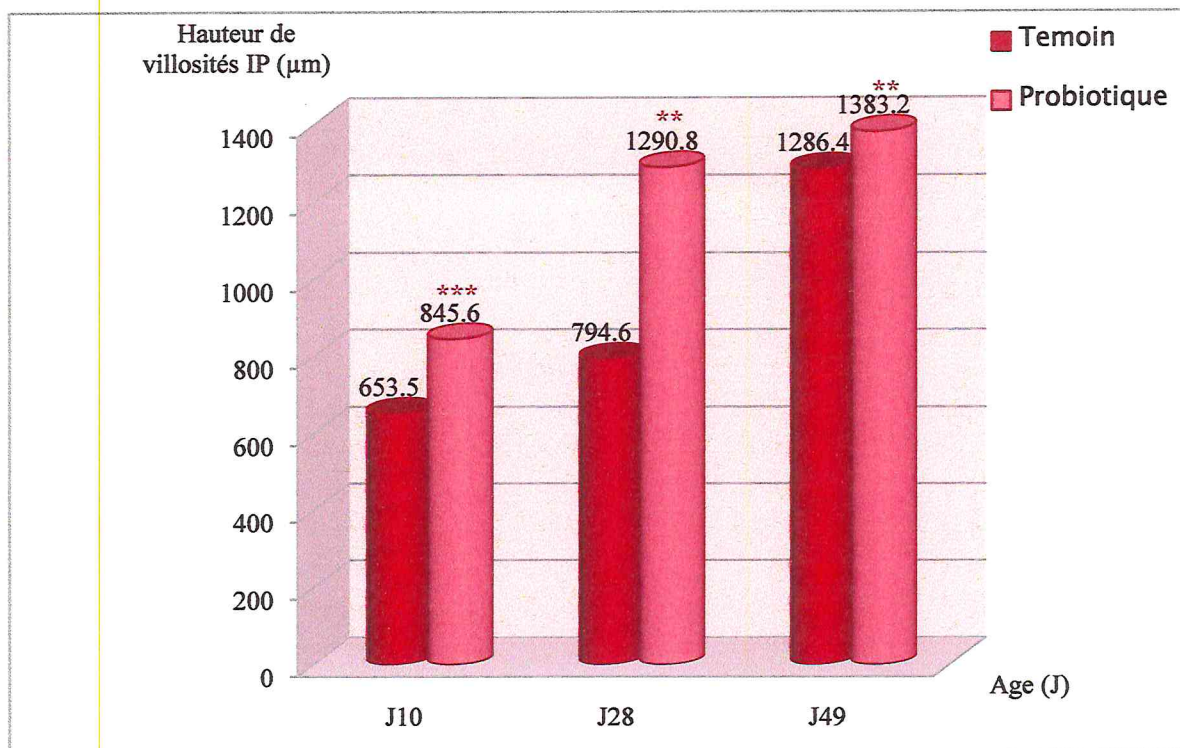
Le volume des villosités est aussi significativement supérieur ( $P<0,001$ ) chez les individus supplémentés par rapport aux témoins : 2 fois plus grands à J10, 6 fois plus à J28 et 3 fois plus à J49 (Figure 12).

### III. Effet du Probiotique *P. acidilactici* sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau du l'iléon proximal :

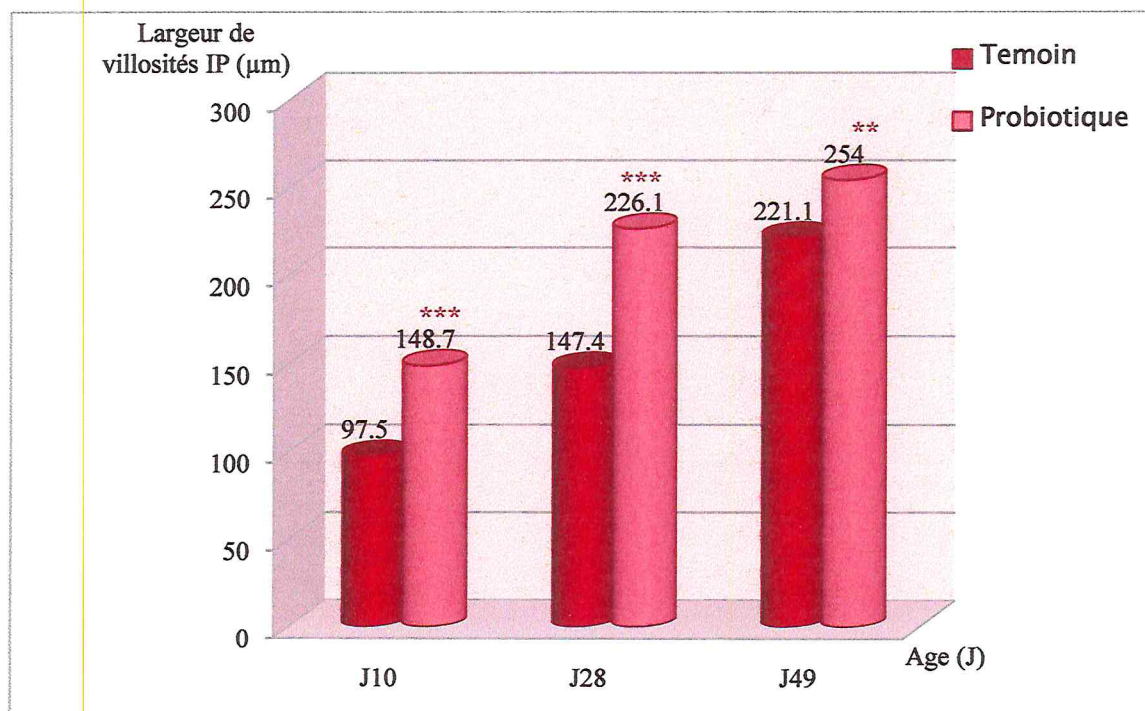
**Tableau 12 :** Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du l'iléon proximal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en *P. acidilactici* (lot Probiotique) (Moyennes  $\pm$ SE; n=20).

	Age (J)	Lot Témoin	Lot Probiotique	ANOVA (p=)
Hauteur des villosités intestinales ( $\mu\text{m}$ ) Au niveau du l'iléon proximal	J10	653,5 $\pm$ 35,0	845,6 $\pm$ 26,5	***
	J28	794,6 $\pm$ 46,2	1290,8 $\pm$ 55,2	**
	J49	1286,4 $\pm$ 23,3	1383,2 $\pm$ 42,8	**
Largeur des villosités ( $\mu\text{m}$ ) intestinales Au niveau du l'iléon proximal	J10	97,5 $\pm$ 5,4	148,7 $\pm$ 5,3	***
	J28	147,4 $\pm$ 7,7	226,1 $\pm$ 13,6	***
	J49	221,1 $\pm$ 13,4	254,0 $\pm$ 13,2	**
Volume des villosités ( $\text{mm}^3$ ) intestinales Au niveau du l'iléon proximal	J10	0,005 $\pm$ 0,0005	0,014 $\pm$ 0,001	***
	J28	0,013 $\pm$ 0,001	0,051 $\pm$ 0,006	***
	J49	0,049 $\pm$ 0,005	0,070 $\pm$ 0,007	**

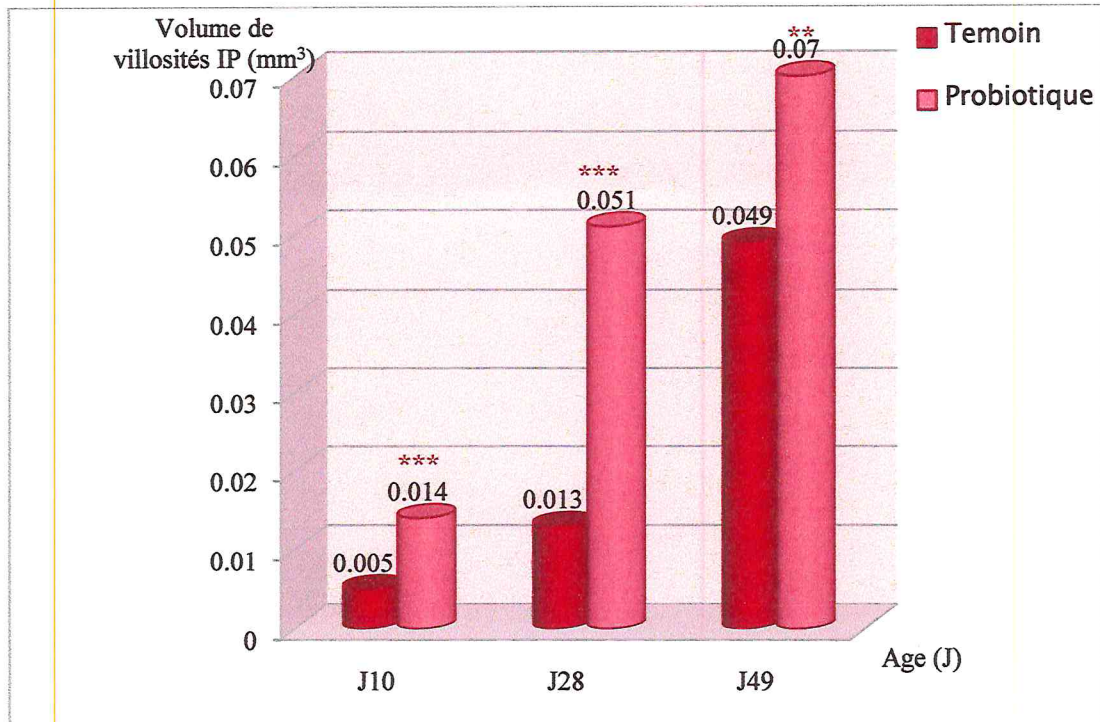
\*\*  $P<0,01$ , \*\*\*  $P<0,001$ .



**Figure 13 :** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la hauteur des villosités du l'iléon proximal (µm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes ± SE ; n=20 ; \*\*\* P<0,001, \*\* P<0,01).



**Figure 14:** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la largeur des villosités du l'iléon proximal (µm) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes ± SE ; n=20 ; \*\*\* P<0,001, \*\* P<0,01).



**Figure 15:** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du l'iléon proximal (mm<sup>3</sup>) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes  $\pm$  SE ; n=20 ; \*\*\* P<0,001, \*\* P<0,01).

Au niveau de l'iléon proximal, la hauteur moyenne des villosités est aussi significativement supérieure chez le lot supplémenté en *P. acidilactici* comparé au témoin et ce à l'âge de 10 jours (+29.39% ; P<0,001) et de 28 jours (+63% ; P<0,01) et à J49 (+8%, P<0,01) (Figure 13).

Quelque soit l'âge de mesure, les villosités sont nettement plus larges que celles des poulets témoins : +53% (P<0,001) à J10, +63% (P<0,001) à j28 et + 15% (P<0,01) à J49 (Figure 14).

Les poulets du lot Probiotique ont un volume de villosité plus grands que celui mesuré chez les témoins à J10 et à J28 : augmentations très significatives (P<0,001) de l'ordre de +180% et de +292% respectivement. De la même manière, à J49, le volume des villosités iléales au niveau proximal est significativement plus élevé chez les animaux supplémentés comparés aux témoins mais avec une moindre amplitude : +43%(P>0,05) (Figure 15).

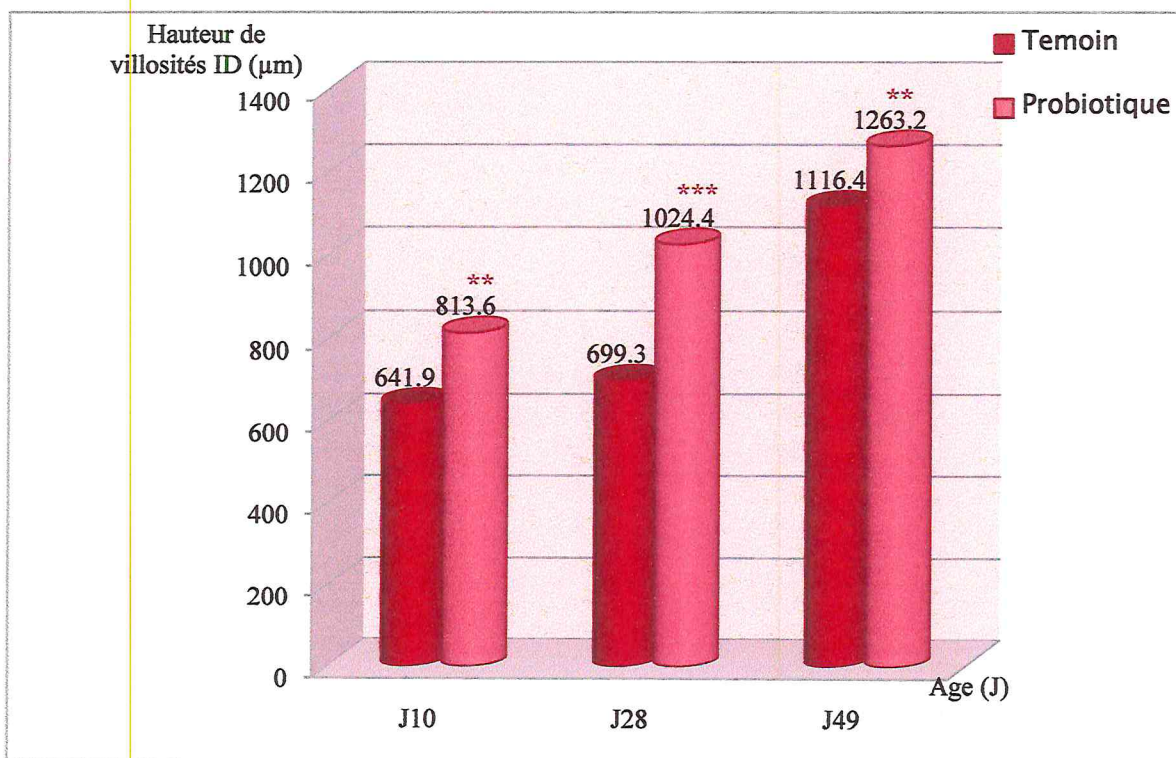


#### IV. Effet du Probiotique *P. acidilactici* sur la hauteur, la largeur et le volume des villosités intestinales Au niveau du l'iléon distal :

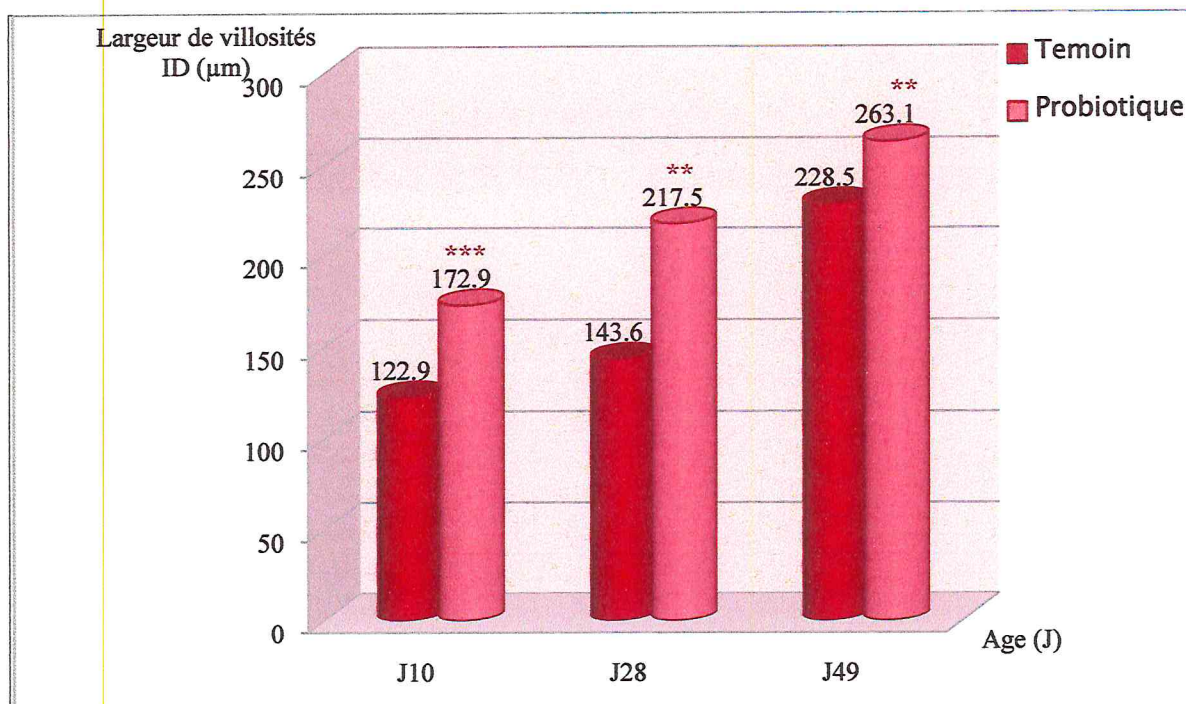
**Tableau 13** : Hauteur, largeur, volumes, des villosités intestinales au niveau du l'iléon distal, mesurés à l'âge de 10, 28 et 49 jours, chez les poulets recevant un aliment standard (lot Témoin) ou un aliment supplémenté en *P. acidilactici* (lot Probiotique) (Moyennes  $\pm$ SE; n=20).

	Age (J)	Lot Témoin	Lot Probiotique	ANOVA (p=)
Hauteur des villosités intestinales ( $\mu\text{m}$ ) Au niveau du l'iléon distal	J10	641,9 $\pm$ 31,4	813,6 $\pm$ 33,1	**
	J28	699,3 $\pm$ 18,0	1024,4 $\pm$ 26,3	***
	J49	1116,4 $\pm$ 33,7	1263,2 $\pm$ 20,8	**
Largeur des villosités ( $\mu\text{m}$ ) intestinales Au niveau du l'iléon distal	J10	122,9 $\pm$ 4,3	172,9 $\pm$ 6,1	***
	J28	143,6 $\pm$ 6,6	217,5 $\pm$ 10,7	**
	J49	228,5 $\pm$ 12,7	263,1 $\pm$ 14,7	**
Volume des villosités ( $\text{mm}^3$ ) intestinales Au niveau du l'iléon distal	J10	0,008 $\pm$ 0,001	0,019 $\pm$ 0,001	***
	J28	0,011 $\pm$ 0,001	0,038 $\pm$ 0,004	***
	J49	0,046 $\pm$ 0,006	0,068 $\pm$ 0,007	**

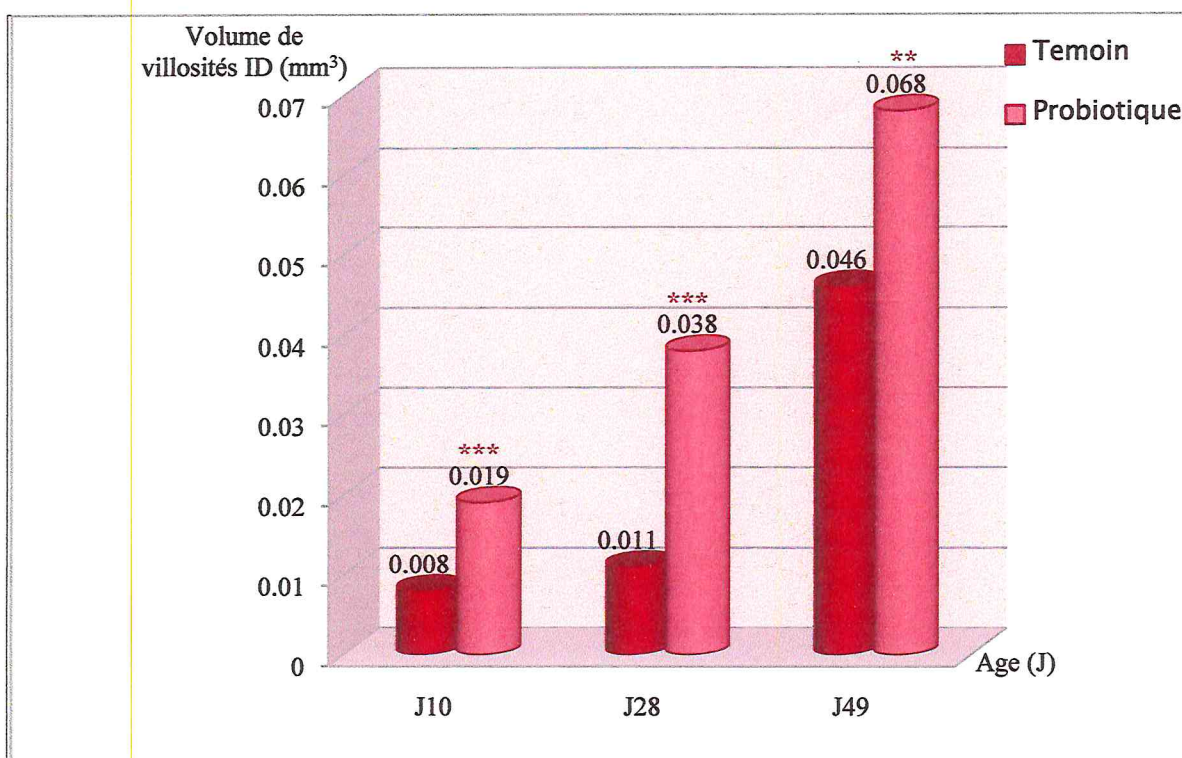
\*\* P<0,01, \*\*\* P<0,001.



**Figure 16**: Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la hauteur des villosités du l'iléon distal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes  $\pm$  SE ; n=20 ; \*\*\* P<0,001, \*\* P<0,01).



**Figure 17 :** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur la largeur des villosités du l'iléon distal ( $\mu\text{m}$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes  $\pm$  SE ;  $n=20$  ; \*\*\*  $P<0,001$ ).



**Figure 18:** Effet de la supplémentation alimentaire en probiotique *Pediococcus acidilactici* sur le volume des villosités du l'iléon distal ( $\text{mm}^3$ ) du poulet de chair à l'âge de 10, 28 et 49 jours (Moyennes  $\pm$  SE ;  $n=20$  ; \*\*\*  $P<0,001$ , \*\*  $P<0,01$ ).

Au niveau de l'iléon distal, quelque soit l'âge de mesure, les villosités sont nettement plus hautes que celles des poulets témoins : +27% (P<0,01) à J10, +47% (P<0,001) à J28 et +14% (P<0,01) à J49 (Figure 16).

Les largeurs des villosités enregistrées sont également nettement augmentées après supplémentation aux trois dates de mesures : +41% à J10 (P<0,001), +52% à J28 (P<0,01) et 16% à J49 (P<0,01) (Figure 17).

Le volume moyen des villosités intestinales enregistré au 10<sup>ème</sup> et au 28<sup>ème</sup> jour d'âge est significativement plus grand chez les animaux recevant le probiotique comparés aux témoins : +138% à J10 et +246% à J28 (P<0,0001). Cette augmentation significative de volume est aussi retrouvée, à l'âge de 49 jours, mais avec une plus faible amplitude : +48% ; P<0,01 (Figure 18).

# Discussion

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

#### **...Surfaces d'absorption intestinale supérieures**

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

Des résultats similaires sont rapportés également dans plusieurs études réalisées avec le même probiotique que le nôtre (AWAAD *et al.*, 2006) ainsi HAMMAMI, 2009 démontrent une augmentation significative des hauteurs des villosités de même que le volume intestinale à savoir à j10, j28, j49 au niveau duodénale et iléale proximales et distales, Ces résultats aussi concordent avec les données histomorphologiques récentes rapportées par Awad *et al* (2009) chez des poulets supplémentés durant 35 jours en *Lactobacillus* sp. De même, Chichlowski *et al* (2007) montrent que la supplémentation alimentaire en *Bifidobacterium thermophilum* et *Enterococcus faecium* augmente la taille des villosités jéjunales. Des villosités iléales plus longues sont également observées chez des poulets reproducteurs adultes mâles supplémentés en *Bacillus subtilis* var. *natto* (Samanya *et Yamauchi*, 2002) et chez des poulets de chair après addition de *E. faecium* (Samli *et al*, 2007) ou de *Eubacterium* sp. (Awad *et al*, 2006) ou bien avec d'autres probiotiques ou mélange de probiotiques, à savoir: *Lactobacillus reutei* (mesures à 21 jours d'âge ; EDENS *et al.* 1997) ; *Bacillus subtilis* ou un mélange de *Lactobacillus acidophilus* et *L.casei* (mesures à 21 jours d'âge, au niveau iléal ; PELICANO *et al.*, 2005) . En revanche, PELICANO *et al.* (2003) n'observent aucune différence au niveau des villosités intestinales.

Cet accroissement de la taille des villosités intestinales suggère une surface d'absorption digestive plus importante chez les poulets supplémentés (Caspary, 1992). Il serait lié une induction de la prolifération des cellules épithéliales de l'intestin suite à l'ingestion de probiotique comme il a été démontré chez le rat (Ichikawa *et al*, 1999). Par ailleurs, il est établi que l'augmentation de la taille des villosités indique une stimulation de la fonction d'absorption intestinale (Langhout *et al*, 1999 ; Shamato *et Yamauchi*, 2007).

# **Conclusion et Perspectives**



Notre essai a permis de préciser, dans nos conditions locales, l'impact de la supplémentation alimentaire en probiotique (*Pediococcus acidalactici*) sur l'histométrie intestinale du poulet de chair.

Dans nos conditions expérimentales, la supplémentation en probiotique a augmenté significativement les hauteurs des villosités au niveau duodénales, ileales proximales et distales à savoir en phase de démarrage, croissance et finition ce qui traduit une meilleure efficacité de transformation alimentaire.

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

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

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

# Références Bibliographiques





## A

---

- **AIT BELGNAOUI A. (2006)** Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique. Thèse de Doctorat de L'Institut National Polytechnique De Toulouse (France), 203 pages.
- **AMROUCHE T. (2005)** Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries: analyse in vitro et étude ex vivo des mécanismes moléculaires impliqués. Thèse de doctorat, Université de Laval, Canada.
- **ANDREATTI FILHO R. L., DA SILVA E. N., RIBERIO A R., KENDO N., CURI P. R. (2000)**. Use of anaerobic cecal microflora, lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with salmonella typhimurium and salmonella enteritidis. *Braz. J. Microbiol.*, 31:107-112.
- **AWAAD M. H. H, AFIFY M.A., ZOULZAKA S. A., SHALABY B., CHEVAUX E., KHETTOU (2005)**. effets de l'addition de *Pediococcus acidilactici* sur l'infection à *Echerichia coli* et sur la colonisation par *Clostridium perfringens* et *Salmonella typhimurium* chez le poulet Sixième Journée de la Recherche Avicole, St. Malo.
- **AWAD W. A., BÖHM J., RAZZAZI-FAZELI E., GHAREEB K., ZENTEK J., (2006)**. "Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens". *Poultry Science* 85, pp 974–979.
- **AWAD W.A., GHAREEB K., ABDEL-RAHEEM S., BÖHM J. (2009)**. "Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens". *Poultry Science* 88, pp 49-56.

## B

---

- **BEZKOROVANY A. (2001)** Probiotics determinants of survival and growth in the gut. *American J. Clin. Nutr.*, 73(2): 399-405.
- **BIRKELAND S.E., MATTILA-SANDHOLM T. (1998)** Demonstration of safety of probiotics -- a review, 44(1- 2):93-106.
- **BOLE et CAROLE THOMANN. (2005)**. Effets des sur la flore et l'immunité de l'homme adulte P.39,43,44,45.
- **BOUDJENAH A. (2008)** Effet d'une supplémentation de l'aliment en levure *Saccharomyces cerevisiae* de la vache laitière en péripartum. Mémoire de magistère. Ecole nationale vétérinaire d'Alger, 161 pages.



## C

---

- **CALLAWAY T. R., ANDERSON R. C., EDRINGTON T. S., ELDER, R. O., GENOVESE K. J., BISCHOFF K. M., POOLE T. L., JUNG Y. S., HARVEY R. B., and NISBET D. J. (2003).** Preslaughter intervention strategies to reduce food-borne pathogens in food animals. *J. Anim. Sci.*, 81: 17-23.
- **CASAS I. A. et 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.
- **CASPARY W. F., (1992).** "Physiology and pathophysiology of intestinal absorption". *American Journal of Clinical Nutrition* 55, pp 299S–308S.
- **CHAFAI S. (2006)** Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances zootechniques du poulet de chair. Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar de Batna, 97 pages.
- **CHANDRA R.K. (2004)** Micronutrients, probiotics and the liver .*J. gastroenterol. Hepatol.*, 19:398-400.
- **CHICHILOWSKI M., CROOM W. J., EDENS F. W., MACBRIDE 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, pp 1121–1132.
- **CHOCT M. (2001).** Alternatives to in-feed antibiotics in monogastric animal industry. ASA. Technical bulletin. Vol. An 30.

## D

---

- **DENIS O. KRAUSE., JAMES D. HOUSE et NYACHOCT C. M. (2004)** Alternatives to antibiotics in swine diets: a molecular approach. Department of Animal Science. University of Manitoba. Canada
- **DROUAULT S. et CORTIER G. (2001)** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vét. Res.*, 32: 101\_117.

## E

---

- **EDENS F. N., PARKURT C. R., CASAS I. A., DOBROGOSZ. (1997).** Principals of Ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of Lactobacillus reuteri. *Poult. Sci*; 76:179-196.
- **ERICKSON K. L. et HUBBARD N.E. (2000)** Probiotic immunomodulation in health and disease. *Journal of Nutrition*, 130, 403-409.



## F

---

- **FAO/WHO. (2004).** Health and Nutritional Properties of Probiotics in food including powder Milk with Live Lactic acid Bacteria.
- **FILHO A. et LIMA E.T. (2005)** Bacteriocins: nomenclature, detection, mechanism of action and potential use in poultry production. *J. Food, Agri. Enviro.*, 3 (2): 62-66.
- **FOOKS L.J. et GIBSON G. R. (2002).** Probiotics as modulators of .the gut flora. *Brit. J. Nutr.*, 88, suppl. I: 39-49.
- **FULLER L. (1989).** Probiotics in man and animals. *J. Food, Agri. Enviro.*,7 (3): 96-102.
- **FULLER L. (2004).** Probiotics: their development and use. ). *Poult. Sc.*, 8(10):102-106.

## G

---

- **GABRIEL I., MALLET S., LESSIRE M. (2003)** La microflore digestive une composante oublié dans la nutrition des volailles. Cinquième Journée de la Recherche Avicole.Tours.
- **GABRIEL I., MALLET S., SIBELE P. (2005).** “La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal”. *INRA Production Animale* 18 (5), pp 309-322.
- **GHADBAN G. S. (2002)** Probiotics in broiler production. *Rev. Arch. Geflügelk.*, 66 (2): 49. 58.
- **GIL DE LOS SANTOS J. R., STONCHO B. G., TURNES C. (2005)** *Bacillus cerus* var *toyii* and *Saccharomyces boulardii* increased feed efficiency in broilers infected with *Salmonella enteritidis*. *Br. Poult Scienc*, 46(4):494-497.
- **GOURNIER-CHATEAU N., LARPENT J.P., CASTELLANOS M.I. et LARPENT J.L. (1994).** Les probiotiques en alimentation animale et humaine. ED. TEC et DOC-Lavoisier. Paris. 192 pages.
- **GRAJEK W.,OLEJNIK A., SIP A. (2005).** Probiotics and antioxidants as functional foods. *ACTA Biochimica. Polonica.* Vol.52 N° 3:665-671.
- **GUILLOT J. F. (2001):** Consequences of Probiotics Release in the Intestine of Animals

## H

---

- **HAMMAMI N. (2009).** Effet d'une supplémentation alimentaire en *Pediococcus Acidilactici* (Probiotique) sur les paramètres zootechniques, la flore digestive Lactobacillaire, et l'histométrie intestinale chez le poulet de chair



- **HERZIG I., GOPFERT E., PISARIKOVA B. et STRAKOVA E. (2003)** Testing of growth promoting maintenance of oral tolerance in vitro. *Clinical Diagnostic and Laboratory Immunology*, 10, 787-792.

I

- **ICHIKAWA H., KUROIWA T., INAGAKI A., (1999).** “Probiotic bacteria stimulate epithelial cell proliferation in rat”. *Digestive Diseases Sciences* 44, pp 2119 2123.

J

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

K

- **KAUR I. P., CHOPRA K., et SAINI A. (2002)** Probiotics: potential pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15, 1-9.
- **KREHBIEL C.R., RUST S.R., ZHANG G., GILLILAND S.E. (2003)** Bacterial direct-fed microbials in ruminant dierts: Performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.*, 81:120-132.
- **KUNG L. JR. (2001)** Direct-fed microbials and enzymes for dairy cows. Department of Animal & Food Sciences. University of Delaware.

L

- **LAN. (2005)** Bactocell lactic ferment for ferment roe poultry. *Pediococcus acidilactici* MA 18/5M. Document interne Lallemand Animal Nutrition (LAN). 29 pages.
- **LANGHOUT D. J., SCHUTTE J. B., VAN L. P., WIEBENGA J., TAMMINGA S., (1999).** “Effect of dietary high and low methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chickens”. *British Poultry Science* 40, pp 340–347.
- **LARBIER et LECLERCQ. (1994)** Nutrition et alimentation des volailles. Edition. INRA. 349.
- **LEAHY S.C., HIGGINS D.G., FITZGERALD G.F., and VAN SINDEREN D. (2005)** Getting better with bifidobacteria. *J. App. Microbiol.*, 98: 1303-1315.
- **LEE K.W., LEE S. K. and LEE B. D. (2006)** *Aspergillus oryzae* as Probiotic in Poultry. *Poult. Sci.*, 5 (1).
- **LILLY D.M. and STILLWELL R.H. (1965)** Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science*; 147:747-8.

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

## **M**

---

- **MALLET S., BOUVARL I., LESSIRE M. (2001).** Facteurs de variation de la microflore intestinale des oiseaux domestiques : impact de l'alimentation. Quatrièmes journées de la recherche avicole. Nantes.
- **MARTEAU P. et RAMB J.C. (1998)** Probiotiques en gastroentérologie n° 4, vol. 5.
- **MARTEAU P. (2001)** Safety aspects of probiotic products. *Scand. J. Nutr.*, 45:8-12.
- **MARTOJA R., et MARTOJA-PIERSON M. (1967)** Initiation aux techniques e l'histologie animale 345.pages
- **MEAD G.C. (1989)** Microbes of the avian cecum. Types present and substrates utilized. *J. Exp. Zool.*, 3, Suppl, 48-54.
- **METCHNIKOFF E. (1907).** The prolongation of life. Dans: *Optimistic studies.* Butterworth-Heinemann, London.
- **MOREIRA J. L. S., MOTA R. M., HORTA M. F., TEIXEIRA S. MR., NEUMANN E., NICOLI J. R. and NUNES A. C. (2005)** Identification to the species level of Lactobacillus isolated probiotic prospecting studies of human, animal or food origin 16S-23S rRNA restriction profiling. *BMC. Microbiol.*, 5:15.
- **MURRY A.C., A HINTONJR J. R and MORRISON H. (2004).** Inhibition of growth of Escherichia coli, salmonella typhimurium and clostridia on chicken fee media by lactobacillus salivarius and lactobacillus plantarum perfringens. *International journal of poultry science.*, 3 (9): 603-607.

## **N**

---

- **NETHEWOOD T., GILBERT H. J., PARKER D. S., and 0 DONNELL, A. G. (1999).** Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(11) : 5134-5138.
- **NOVERR M. C., et HUFFNAGLE1 G. B. (2004)** Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends in Microbiology*, 12, 562-568.

## **P**

---

- **PARKER R. (1974).** Probiotics, the other half of antibiotic story. *Anim Nutr Health*
- **PASCUAL M., HUGAS M., BADIOLA J. I., MONFORT J. M., and GARRIGA M. (1999).** Lactobacillus salivarius CTC2197 Prevents Salmonella enteritidis Colonization in Chickens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(11) : 4981-4986.



- **PELICANO E. R. L., SOUZAA P. A., SOUZAA H. B. A., OBA A., NORKUSC E. A., KODAWARAC et LIMA T. M. A. (2003)** Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. *Rev. Bras. Cienc.*, 5(03) : 207-214.
- **PELICANO E. R. L., SOUZAA P. A., SOUZAA H. B. A., FIGUEIRIDO D. F., BOIGO M. M., CARVALHO S. R., BORDON.(2005)** Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Rev. Bras. Cienc.*, 7(04) : 221-229.
- **PERCIVAL M. (1999)** Choosing a Probiotic Supplement. *Clinical. Nutrition. Insights.* Vol. 6, No.1.
- **PERCIVAL M.(1997).** Choosing a Probiotic Supplement. *Clinical. Nutrition. Insights.* Vol.6 , No.1.
- **PRIOULT G., FLISS I., et PECQUET S. (2003)** Effect of probiotic bacteria on induction and maintenance of oral tolerance to  $\alpha$ -lactoglobulin in gnotobiotic mice. *Clinical Diagnostic and Laboratory Immunology*, 10, 787-792.

## R

- **ROLFE R. D., (2000).** The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *J. Nutr.*, 130: 396\_402.

## S

- **SAKATA T et SETOYAM H. (1995)** Local stimulatory effect of short chain acids on the mucus release from the hindgut mucosa of rats (*Rattus norvegicus*). *Comp.Biochem. Physiol.*, 111, 429-432.
- **SALMINEN S., WRIGHT A., MORELLI L., MARTEAU P., BRASSART D; DEVOS W.M., FONDÉN R., SAXELIN M., COLLINS K., MOGENSEN G. and BIRKELAND S.E., MATTILA-SANDHOLM T. (1998)** Demonstration of safety of probiotics -- a review, 44(1- 2):93-106.
- **SALMINEN S. (1999)** Probiotics: Scientific Support for Use. *Food Technology.*, Vol. 53, N°. 11.
- **SAMANYA M., YAMAUCHI K. (2002).** "Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis var. natto*". *Comparative Biochemistry Physiology* 133, pp 95–104.
- **SAMLI H. E., SENKOYLU N., KOC F., KANTER M., AGMA A. (2007).** "Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and microbiota". *Archives of Animal Nutrition* 61, pp 42–49.
- **SCHREZENMEIR J. and DEVRESE M. (2001)** Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73(2): 361-364.



- **SHAMATO K., AND YAMAUCHI K. (2007).** “Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures”. *Poultry Science* 9, pp 718–723.
- **SIMON O., JADAMUS A., et VAHJEN W. (2001)** *Anim. Feed Sci.*, 10: 51-67
- **SIMON O. (2005)** Micro-Organisms as Feed Additives \_Probiotics. *Advances in Pork Production* Volume 16, page. 161.
- **SMITH H.W. (1965)** Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *J. Pathol. Bacteriol.*, 89, 95-122.
- **SOOMRO A.H., MASUD T. and ANWAAR K. (2002)** Role of lactic acid bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health. *Rev. Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1) : 20-24.
- **SOUILEM O. et GOGNY M. (1994)** Particularité de la physiologie digestive des volailles. *Med. Vet.*,145(7):525- 537.
- **STROMPFOV A V., LAUKOVA A., M UDRONOVA D. (2003)** Effect of Bacteriocin-Like Substance Produced by *Enterococcus faecium* EF55 on the composition of Avian Gastrointestinal Microflora. *Acta. Vet. Brno.*, 72: 559-564.

## T

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

## V

- **VAN BELKUM M. J., and STILES M E. (2000)** Nonantibiotic antibacterial peptides from lactic acid bacteria. *Nat Prod. Rep.*, 17, 323-335.
- **VAN EYE et DEN HARTOG. (2003).** Nutrition et alimentation : Métabolismes des lipides Université de Canada 70 pages.
- **VITTORIO S. A., MAURO F., CARLA B., GIOVANNA D. D., GIOVANNI S. et CHEVAUX E. (2005)** Effets de l'addition de *pediococcus acidilactici* dans la ration de poulets de chair sur les performances zootechniques et la microflore intestinale. Sixième journée de la recherche avicole. S.Malo.

## Z

- **ZACCONI C. SVOLARI FRAIOLI G. D., SARRA P.G. (1999).** Colonization of chicken intestinal tract by *lactobacillus salivarius* A23 strain. *Annali di Microbiologia Ed Enzimologia*. 49: 103- 115.
- **ZHANG Z.(2004).** Development of probiotics and probiotics opportunities and challenges.



**SOURCE INTERNET**

---

- **SOURCE INTERNET N° 1:** <http://species.wikimedia.org/wiki/Lactobacillaceae>.
- **SOURCE INTERNET N° 2:** <http://www.anathenature.com>.
- **SOURCE INTERNET N° 3 :** [www.inapg.inra.fr/dsa/afz/pdf/afz\\_contact\\_16.pdf](http://www.inapg.inra.fr/dsa/afz/pdf/afz_contact_16.pdf)
- **SOURCE INTERNET N° 4 :** [www.isapp.net/docs/ A FFSA probiotici prebiotici cfl orali immunita05.pdf](http://www.isapp.net/docs/A_FFSA_probiotici_prebiotici_cfl_orali_immunita05.pdf).



# Annexe

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

Fiche de spécification



## BACTOCELL

LE RENFORCEMENT DE L'ECOSYSTEME  
DES VOLAILLES €

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

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

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

### GARANTIES

SOUCHES DE BACTERIE LACTIQUE :

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

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

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

### DOSES D'UTILISATION (dans l'aliment)

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

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

### MÉTHODES D'ANALYSE

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

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

### SÉCURITÉ D'EMPLOI

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

### PRÉSENTATION

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

€ Autorisation Européenne pour l'aliment des poulets.



www.lallemmand.com  
animal@lallemmand.com

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

BCTSLFR0604  
CP BCT - 426740  
CP BCT10-500G - 426741  
CP BCT ME - 426742

Animal Nutrition