

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue d'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Sélection de souches à potentiel probiotique
isolées de poulet de chair

Présenté par :

BAKOUR Manel & BELABBAS Dounia

Soutenu le : 16 Septembre 2021

Devant les jurys :

Mlle. BENDALI F.

Professeur

Présidente

Mme. FARADJI-HAMMA S.

M.C.A

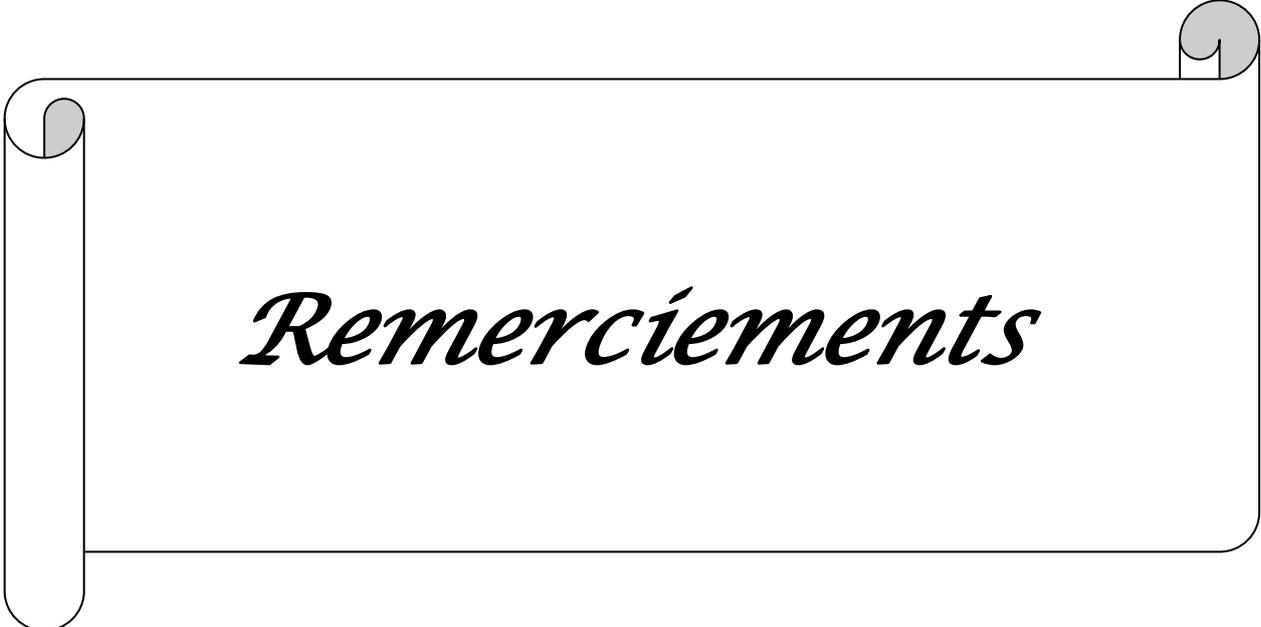
Encadreur

Mr. BENDJEDDOU K.

M.C.A

Examineur

Année Universitaire : 2020/2021



Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidés et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

*On tient à remercier vivement, notre promotrice madame **Faradjt-Hamma. S.**, pour avoir accepté de nous encadrer et d'assurer la direction de ce travail, et pour avoir apporté la rigueur scientifique nécessaire à son bon déroulement, qu'elle soit rassurée de notre profonde gratitude.*

On tient à remercier :

*Les membres de jury d'avoir acceptés d'évaluer ce travail, à la présidente Madame **Bendali. F.**, Et à l'examinateur, Monsieur **Bendjeddou. K.***

L'ensemble des enseignants de l'université Abderrahmane Mira de Bejaïa qui ont contribué à notre formation durant les 5 années particulièrement ceux de l'option biologie chacun son nom.

On tient à remercier l'ensemble de la promotion Microbiologie Appliquée 2020/2021.

On remercie également les techniciennes du laboratoire de Microbiologie

Enfin, nous ne saurait oublier d'exprimer toute notre sympathie à l'ensemble du personnel de laboratoire de microbiologie et Toute personne qui ayant contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mon cher oncle, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes mes années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, et à me protéger, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner

*A celles qui m'ont données l'amour, la compréhension, la tendresse, le courage, les femmes dont l'affection, la grandeur d'âme et l'esprit m'ont permis d'arriver à surmonter tous les défis pour pouvoir donner le meilleur, **ma chère grand-mère, ma chère mère, et ma chère tante.***

A mon père qui a toujours été présent pour moi et qui a fourni tellement d'efforts pour m'aider tout au long de ma vie.

A mes frères qui m'ont soutenus et veillés sur moi.

A mes tantes, mes cousines, cousins et mes ami(e)s.

*A mon amie et binôme **Dounia.***

Enfin, à toutes les personnes qui comptent pour moi, et qui m'ont accompagnées et soutenues.

Tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Manel

Je dédie ce modeste travail :

*A mon très cher père, qui a veillé sur mon éducation, que le dieu
l'accueille dans son vaste Paradis*

*A ma très chère mère qui a toujours été là pour moi, et qui a donné un
magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'elle
trouvera dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour*

A mon très cher fiancé Khaled qui a été toujours là pour moi

A mon très cher frère Amine

*A ma très chère sœur Amina, son mari Faycel et mes petits neveux
Mohamed Djad et Mohamed Djoud*

A mes très chères sœurs Meriem et Lynda.

A ma Grand-mère Zohra

A mes meilleures amies Yasmine et Manel

A mes beaux-parents Saïd et Mouni

A mes tantes, oncles, cousins et cousines

*Toute personne que j'ai omis de mentionner et que se reconnaîtra
comme étant à mes yeux, de bonne et meilleure compagnie*

Dounia

Liste des abréviations

Nom du genre bactérien

E. : *Escherichia*

S. : *Staphylococcus*

S. : *Salmonella*

sp. : subspieces

Autre abréviation

BL : bactéries lactiques

F : Femelle

FAO : Food and Agriculture Organization

M : mâle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P : Prélèvement

WHO : World Health Organization

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre	Numéro de page
Tableau I	Nombre de bactéries viables (log ₁₀ /g de contenu) des groupes majoritaires dans le tube digestif du poulet.	5
Tableau II	Distribution des bactéries intestinales chez le poulet.	5
Tableau III	Principaux critères de sélection des probiotiques.	11
Tableau IV	Exemples d'effets probiotiques démontrés en élevage avicole.	15
Tableau V	Origine des prélèvements de fiente de poulets.	17
Tableau VI	Concentration des diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques.	22
Tableau VII	Région d'étude de l'enquête.	23
Tableau VIII	Pourcentage des maladies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair.	23
Tableau IX	Pourcentage des pathologies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair.	24
Tableau X	Pourcentage d'apparition des pathologies en fonction de la saison.	24
Tableau XI	Pourcentage de type de traitement utilisé en élevage de poulet de chair.	25
Tableau XII	Pourcentage de type d'aliment utilisé en élevage de poulet de chair.	25
Tableau XIII	Composition de l'aliment industriel du poulet de chair.	25
Tableau XIV	Pourcentage de respect de phases de croissance.	26
Tableau XV	Pourcentage de la durée d'élevages.	26
Tableau XVI	Pourcentage de taux de mortalité en élevage de poulet de chair.	27
Tableau XVII	Pourcentage d'utilisation ou non des antibiotiques en élevage de poulet de chair.	27

Tableau XVIII	Les antibiotiques utilisés en élevage de poulet de chair.	28
Tableau XIX	Programme de vaccination.	28
Tableau XX	Pourcentage de connaissance des probiotiques dans le milieu des éleveurs.	29
Tableau XXI	Pourcentage d'exploitation et d'utilisation des probiotiques dans le milieu des éleveurs.	29
Tableau XXII	Résultat de l'enrichissement des échantillons de fiente dans le bouillon MRS.	30
Tableau XXIII	Résultat de l'observation macroscopique des souches pathogènes.	33
Tableau XXIV	Résultat d'observation microscopique des souches pathogènes.	34
Tableau XXV	Diamètre des zones d'inhibition d'activité antimicrobienne vis-à-vis d' <i>E. coli</i> .	35
Tableau XXVI	Diamètre des zones d'inhibition d'activité antimicrobienne vis-à-vis de <i>S. aureus</i> .	37
Tableau XXVII	Diamètre des zones d'inhibition d'activité antimicrobienne vis-à-vis de <i>Salmonella typhi</i> et <i>Aspergillus sp.</i>	38
Tableau XXVIII	Type de fermentation des souches testées.	39
Tableau XXIX	Résultats de la résistance à l'acidité gastrique et aux sels biliaires.	41
Tableau XXX	Résultat d'activité hémolytique des souches testées.	43
Tableau XXXI	Résultat de résistance des souches testées aux antibiotiques.	45

Liste des figures

Numéro de figure	Titre	Numéro de page
Figure 1	Anatomie du poulet.	3
Figure 2	Représentation des différents genres microbiens autorisés en tant qu'additifs en alimentation avicole en Europe.	12
Figure 3	Exemples d'aspect macroscopique des isolats sur gélose MRS.	31
Figure 4	Exemple d'observation microscopique des isolats.	31
Figure 5	Exemple de résultats d'activité antimicrobienne vis-à-vis d' <i>E. coli</i> .	36
Figure 6	Exemple de résultat d'activité antimicrobienne vis-à-vis de <i>S. aureus</i> .	37
Figure 7	Exemple d'activité antimicrobienne vis-à-vis de <i>Salmonella Typhi</i> .	39
Figure 8	Résultat de la thermorésistance des souches testées.	40
Figure 9	Exemple de résistance d'une souche à l'acidité gastrique après 24h d'incubation.	41
Figure 10	Résultat d'activité hémolytique de la souche P4/F S1 (a) et exemple de croissance pour d'autres souches (b).	44
Figure 11	Exemple de résistance de la souche P3/F S3 aux différents antibiotiques.	46
Figure 12	Exemple de sensibilité de la souche P5/F S2 aux quelques antibiotiques.	46

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE I : GENERALITE SUR LA VOLAILLE

I. Anatomie du poulet.....	3
II. La microflore digestive du poulet	3
II.1. La répartition de la microflore digestive	4
III. Alimentation du poulet	6
IV. Les maladies les plus fréquentes chez les volailles	7
IV.1. Les maladies virales	7
IV.2. Les maladies bactériennes	7
IV.3. Les maladies parasitaires	8
IV.4. Les maladies fongiques	8

PARTIE II : LES PROBIOTIQUES EN AVICULTURE

I. Histoire d'utilisation des probiotiques en alimentation animale	9
II. Définition des probiotiques	10
III. Les critères de sélection des probiotiques	10
IV. Les principaux microorganismes probiotiques utilisés en alimentation animale.....	11
IV.1. Les différents microorganismes probiotiques en aviculture	12
V. Efficacité des probiotiques en aviculture	13
V.1. Efficacité sanitaire	13
V.2. Efficacité zootechnique	14
V.2.1. Equilibre de la flore intestinale	14

V.2.2. Effet sur la qualité du produit	14
--	----

PARTIE EXPEREMENTALE

<i>MATERIELS et METHODES</i>	16
---	----

I .Enquête	16
-------------------------	----

I.1 .Modalité de recueil des données	16
---	----

I.2. Mise en forme / saisie des données	16
--	----

I.3. Paramètre étudié dans cette enquête	16
---	----

II. Isolement des bactéries lactiques	17
--	----

II.1. Collection des échantillons	17
--	----

II.1. Enrichissement et isolement	17
--	----

II.2. Purification	18
---------------------------------	----

III. Etude des caractères morphologiques	18
---	----

III.1. Examen macroscopique	18
--	----

III.2. Examen microscopique	18
--	----

IV. Recherche de la catalase	18
---	----

V. Evaluations des aptitudes probiotiques <i>in vitro</i>	19
--	----

V.1. Etude de l'activité antimicrobienne	19
---	----

V.1.1. Revivification et standardisation des souches pathogènes	19
--	----

V.1.2. Test des spots	19
------------------------------------	----

V.2. Type de fermentation	20
--	----

V.3. Thermorésistance	20
------------------------------------	----

V.4. Résistance à l'acidité gastrique	20
--	----

V.5. Résistance aux sels biliaires	21
VI. Evaluation de l'aspect sécuritaire	21
VI.1. L'activité hémolytique	21
VI.2. Résistance aux antibiotiques	21
RESULTATS et DISCUSSION.....	23
I. Enquête	23
II. Isolement de bactéries lactiques	29
II.1. Enrichissement et isolement	29
II.2. Purification	30
III. Etude des caractères morphologiques	30
III.1. Examen macroscopique	30
III.2. Examen microscopique	31
IV. Recherche de la catalase	32
V. Evaluation des aptitudes probiotiques <i>in vitro</i>	32
V.1. Etude de l'activité antimicrobienne.....	32
V.1.1. Revivification et standardisation des souches pathogènes	32
V.1.2. Test des spots	34
V.2. Type de fermentation	39
V.3. Thermorésistance	40
V.4. Résistance à l'acidité et aux sels biliaires	41
VI. Evaluation le l'aspect sécuritaire	42
VI.1. Activité hémolytique	42
VI.2. Résistance aux antibiotiques	44

CONCLUSION ET PERSPECTIVES47

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES49

Le microbiote intestinal est le principal réservoir de bactéries chez les animaux. Il existe un équilibre entre les bactéries pathogènes et bénéfiques dans l'intestin des poulets de chair sains. Lorsqu'un équilibre existe, le poulet de chair atteint son efficacité de développement maximale, à l'inverse si un stress est imposé, le microbiote bénéfique a tendance à diminuer et cela peut entraîner une forte exposition aux maladies (**Blajman et al., 2015**). Dans l'élevage du poulet de chair, la santé intestinale est cruciale, en raison de son influence sur la santé et l'utilisation des nutriments (**Namula et al., 2020**). De plus, son influence est directe dans l'obtention des paramètres de performance idéaux (**Chaves GHC et al., 2019**).

Divers additifs ayant des fonctions différentes ont été utilisés pour formuler des régimes complets pour le poulet de chair. Certains additifs agissent comme des "suppléments nutritionnels" et d'autres garantissent une protection contre les maladies. Les antibiotiques sont parmi les additifs les plus utilisés pour contrôler la santé des oiseaux (**Machado, 2019**). Les antibiotiques étaient largement utilisés comme promoteurs de croissance, dont l'application se faisait à des doses subthérapeutiques tout au long de l'élevage des poulets de chair. Cependant, de nombreux éléments indiquent que les antibiotiques ont contribué au développement de la résistance des souches pathogènes (**Van Yidana, 2020**).

L'émergence de souches résistantes dans les élevages de volailles a suscité de vives inquiétudes. Des rapports ont prouvé qu'elle porte atteinte non seulement à la santé des animaux mais aussi à celle de l'homme en raison des interactions trophiques (**Van, 2020**). Par conséquent, le retrait des antibiotiques des poulets de chair est une préoccupation majeure. La recherche de sources alternatives d'additifs est devenue une question cruciale pour de nombreux chercheurs (**Czaplewski et al., 2016**).

Les probiotiques sont devenus des additifs potentiels pour remplacer les antibiotiques chez les poulets de chair, en raison de leur influence sur les performances de ces derniers et de leur sécurité par rapport aux antibiotiques (**Suryadi, 2018**). Les probiotiques sont définis comme étant un groupe de microorganismes non pathogènes, normalement des habitants de la flore intestinale, qui, lorsqu'ils sont administrés, ont l'avantage d'équilibrer le microbiote intestinal en inhibant la multiplication excessive des microorganismes pathogènes (**Namula et al., 2020**). Les probiotiques ont déjà été appliqués à l'homme et à d'autres espèces animales. Certaines espèces de microorganismes, parmi lesquelles les bactéries, les champignons et les levures, sont soigneusement sélectionnées pour être utilisées comme probiotiques (**Simon, 2001**). Chaque souche bactérienne doit avoir des propriétés particulières pour être considérée comme un probiotique potentiel (**FAO/OMS, 2001**). Les Lactobacilles sont un groupe de bactéries fréquemment utilisées comme probiotiques. Ils ont une longue histoire dans leur utilisation comme probiotiques dans l'industrie alimentaire et les souches de *Lactobacillus* sont "généralement reconnues comme sûres". On les retrouve dans l'environnement, comme le sol, l'eau, les matières végétales,

ainsi que dans la microflore normale du tractus gastro-intestinal des animaux (**Kizerwetter-Swida et Binek, 2005**). Il a été suggéré que pour avoir des applications plus spécifiques, les souches bactériennes destinées aux probiotiques pour le poule de chair devraient être isolées de la microflore naturelle du tube digestif des poulets (**Kizerwetter-Swida et Binek, 2005**), celles-ci doivent être correctement étudiées, les souches de *Lactobacillus* ont été identifiées au niveau de l'espèce en utilisant des caractéristiques phénotypiques et moléculaires et les principales propriétés probiotiques (**FAO/OMS, 2001**) étudiées (*in vitro*) étaient celles qui permettraient aux souches de survivre et de coloniser le tube digestif telles que les capacités de tolérer l'acide, la bile et les enzymes pancréatiques, et la capacité d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales.

Dans cette optique s'inscrit notre étude qui a pour but d'isoler des souches de bactéries lactiques à partir de selles de poulet de chair puis la sélection des souches ayant des propriétés probiotiques (activité antimicrobienne, résistance au suc gastrique, résistance aux sels biliaires, sensibilité aux antibiotique et activité hémolytique).

Partie I : Généralités sur la volaille

I-L'anatomie du poulet

Anatomiquement l'appareil digestif de la poule est constitué par un bec, une cavité buccale dépourvue de dents, un œsophage, un jabot, un gésier, des estomacs sécrétoire et musculaire, l'intestin débouchant, dans le cloaque puis l'anus. Il comprend bien sûr les glandes annexes : le foie et le pancréas.

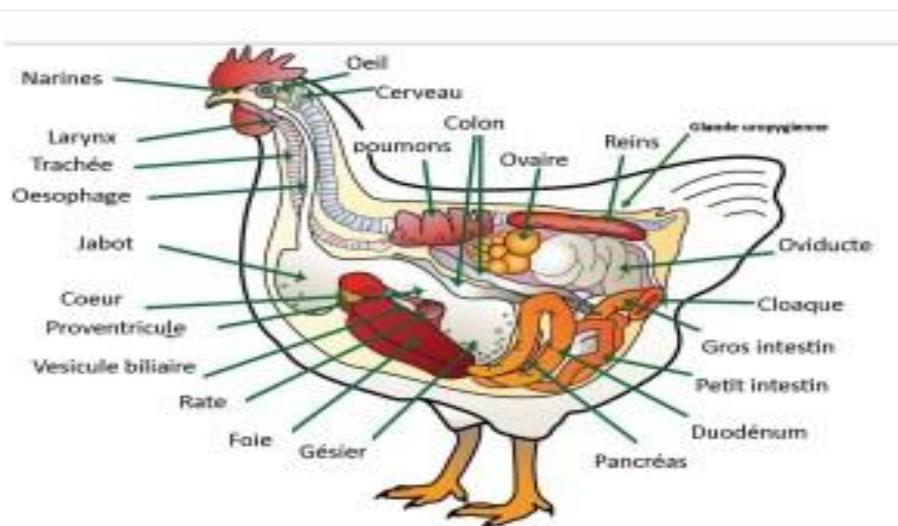


Figure 1: Anatomie du poulet (www.oeuf-poule-poussin.com)

II-La microflore digestive du poulet

La microflore digestive se trouve principalement dans le jabot et les caeca, mais aussi bien, que numériquement moins importante, dans l'intestin. Dans la partie supérieure du tube digestif, les bactéries anaérobies facultatives dominent, alors que les caeca hébergent surtout des bactéries anaérobies strictes. Cette microflore dépend de nombreux facteurs tels que l'individu, son âge, son environnement et son alimentation (**Gabriel et al., 2005**). Chez le poulet, les entérocoques et les lactobacilles sont les espèces dominantes dans le jabot, le duodénum et l'iléum durant la première semaine après éclosion, par contre, les coliforme, les entérocoques et les lactobacilles sont aussi présentes en nombre élevé dans le caecum (**Wielen et al., 2000**). Après la première semaine de l'éclosion un groupe complexe des bactéries anaérobies domine le caecum et les lactobacilles deviennent dominantes dans le jabot, le duodénum et l'iléum. Après la deuxième et la troisième semaine la microflore s'établit et devient stable (**Snel et al., 2002**).

La microflore digestive peut se trouver dans la lumière intestinale ou adhérente à la muqueuse intestinale. La flore laminaire dépend des nutriments disponibles, de la vitesse de transit et de la présence ou non des substances antimicrobiennes (**Schrezenmeier et al., 2001**). La flore des muqueuses dépend de l'expression par l'hôte des sites d'adhésion spécifiques sur les membranes des anthérocytes, de la vitesse de production de mucus, de la production d'anticorps sécrétoires et de l'extraction de matériel cellulaire de la membrane (**Gabriel et al., 2005**).

II.1. La répartition de la microflore digestive

Le tube digestif des oiseaux comme celui des mammifères enferme une population microbienne extrêmement riche et diversifiée (**Paco et al., 2003**). Ce microbiote, comprend des bactéries et des champignons.

Chez le poulet, 29 genres bactériens ont été identifiés, chaque genre serait représenté par 3 à 4 espèces, et chaque espèce est divisée à 4 types métaboliques différents, ce qui ferait plus de 200 types différents (**Gabriel et al., 2003**), sachant que 25% des souches seraient identifiées (**Fuller, 1984**). Le tube digestif contient donc une large population bactérienne de différents types métaboliques et morphologiques. Ainsi, le nombre total de cellules bactériennes est plus important que le nombre de cellule eucaryote constituant le corps de l'hôte (**Gabriel et al., 2005**).

La microflore bactérienne digestive peut être divisée en 3 groupes distincts (**Gabriel et al., 2005**) :

- **La flore dominante** : (plus de 10^7 germes /g) composée d'espèces anaérobies strictes qui sont les lactobacilles et les entérobactéries.
- **La flore sous dominante** : (10^5 à 10^7 germes /g) composée des streptocoques et d'entérobactéries moins spécifiques d'espèces.
- **La flore transitoire** : (moins de 10^5 germes /g) sont souvent des anaérobies stricts.

Tableau I : Nombre de bactérie viable (log₁₀/ g de contenu) des groupes majoritaires dans le tube digestif du poulet (Smith, 1965).

Les groupes majoritaires	Nombre de bactérie viable (log 10/ g de contenu)				
	jabot	gésier	duodénum	iléon	caeca
Lactobacilles	8,7	7,3	8,0	8,6	8,7
Entérocoques	4,0	3,7	4,0	4,2	6,7
Coliformes	1,7	nd	2,0	2,7	5,6
Levures	2,7	nd	1,7	nd	2,0
Clostridies	nd	nd	nd	nd	9,0
Anaérobies obligatoires non sporulant	nd	nd	nd	nd	10,0
streptocoques anaérobies	nd	nd	nd	nd	10,0

Le tableau ci-dessus représente la distribution des groupes bactériens ainsi que le pourcentage des isolats au niveau de chaque section intestinales chez le poulets (selon Jin et al., 1997).

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

Groupe bactérien	Pourcentage des isolats au niveau de chaque section intestinale		
	Duodénum	Jeju-iléum	Caeca
<i>Streptococcus</i>	20,0	18,8	2,5
<i>Staphylococcus</i>	1,0	1,5	-
<i>Lactobacillus</i>	60,0	51,7	1,3
<i>Esherichia coli</i>	16,5	17,0	2,0
Coques anaérobies	2,5	5,8	20,4
<i>Eubacterium</i>	-	-	21,2

<i>Propionibacterium</i>	-	-	2,0
<i>Clodstridium</i>	-	-	8,0
<i>Fusobacterium</i>	-	5,2	12,0
<i>Bacteroides</i>	-	-	30,6
Anaérobies facultative	75,0	71,0	5,8
Anaérobies obligatoire	25,0	29,0	94,2

III-Alimentation de poulet

Un aliment est une substance qui doit fournir à l'animal l'énergie et les éléments nécessaires à son maintien en vie et donc couvrir les besoins d'entretien.

Pour les animaux d'élevage, l'aliment devra en plus apporter assez de nutriment pour répondre aux besoins de production (viande ou œufs). L'aliment destiné à la volaille est généralement un mélange de matière première de diverses origines et de compositions chimiques complexe. Il doit subir une série d'action physique et chimiques préalables permettant d'obtenir des constitutions simple, absorbables, appelés nutriments (**Larbier et Leclercq, 1992**).

Les matières premières qui composent l'aliment de poulet sont de matières premières d'origine végétale qui comprend : les céréales et les sous produits des céréales, les maïs et les sous produits des maïs, les tourteaux des graines oléagineuses. L'aliment est composé aussi des additifs tels que les vitamine et minéraux.

Le cycle de l'élevage de poulet de chair est divisé en trois périodes : période de démarrage, qui dure environ 20 jours, l'aliment doit contenir une teneur en protéines brutes entre 21-23%, ce cycle est suivi par la période de croissance qui peut durer jusqu'au 45^{ème} jour, suivi par le cycle de finition jusqu'au 54^{ème} jour date de l'abattage ou le retrait.

IV-Les maladies les plus fréquentes chez les volailles

IV.1. Les maladies virales

- **Bronchite infectieuse aviaire** : la bronchite infectieuse aviaire est causée par *Coronavirus* appelé IBV. les symptômes de cette maladie sont présentés par des signes respiratoires caractérisés par la toux, le halètement et les écoulements nasaux. Ils sont associés à des signes généraux tels que : la fièvre, l'apathie, l'entassement des oiseaux près des sources de chaleur et une diminution de la consommation d'eau et de nourriture (**TOURNUT, 1967**).
- **Gumboro** : la maladie de Gumboro fait partie des infections virales aviaires responsables d'immunodéficience. Les virus sont des parasites intracellulaires et lorsque les cellules cibles sont principalement ou exclusivement des cellules lymphoïdes, l'infection est suivie d'une immunodépression dont l'importance est fonction de la virulence de l'agent, de la pression d'infection et de la présence ou de l'absence d'une immunité préalable (**VINDEVOGEL, 1992**).
- **Maladie de newcastle** : la maladie de newcastle est causée par un *Paramyxovirus* de type 1, d'après **MEULEMANS (1992)**, elle est caractérisée par une grande variabilité de morbidité, mortalité, signes cliniques et lésions. Chez les adultes on observe des troubles respiratoires et des nerveux, on remarque un arrêt pratiquement total de ponte chez les pondeuses. La mortalité est parfois élevée et peut atteindre 50p. 100 chez les jeunes poulets et les poussins (**RUSSEL et ALEXANDRE, 1983**).

IV.2. Les maladies bactériennes

- **Salmonellose** : la salmonellose est causée par les entérobactéries du genre *Salmonella*, notamment *Salmonella enterica arizonae*. Il existe de sérotypes motiles entraînent des paratyphoïdes, et des sérotypes non motiles pouvant entraîner la pullorose ou la fièvre typhoïde. L'évolution des infections comprend des symptômes généraux d'intensité variable mais surtout une diarrhée blanche, crayeuse, collante au point d'obstruer l'anus en séchant et qui est le symptôme le plus évocateur de la pullorose (**HINTON et MEAD, 1991**).
- **Colibacillose** : Les colibacilloses sont sans doute les infections bactériennes les plus fréquentes et les plus importantes en pathologies aviaire. Elles peuvent entraîner de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir (**Stordeur and Mainil 2002**). Contrairement aux infections des mammifères, les colibacilloses aviaires prennent des formes générales, avec une voie d'entrée respiratoire ou génitale (**Stordeur and Mainil 2002**). L'agent étiologique de la colibacillose est la bactérie *Esherichia coli*.

- **Choléra aviaire** : Il s'agit d'une septicémie contagieuse causée par *Pasteurella multocida* affectant tous types de volailles. Souvent transmis par les oiseaux sauvages ou d'autres animaux domestiques, elle se dissémine par contamination de la nourriture ou de l'eau et par le jetage nasal ou oral d'oiseaux infectés (Merck, 2010).

IV.3. Les maladies parasitaires

- **Les coccidioses** : Les coccidioses sont des affections causées par la multiplication et la prolifération d'organismes appelés coccidies dans les cellules des parois intestinales des volailles (SCHMIDT et al, 1973). Par ailleurs YVORE (1992), affirme que les coccidioses sont des parasites monoxènes à grande spécificité d'hôte.
- **Ascaridiose** : Il s'agit d'une maladie due à des nématodes parasites de la famille des heterikides qui comprend deux genres *Ascardia* et *Heterakis* qui est un vers de 2 cm de long qui vivent dans les caeca (Didier V;2001).

IV.4. Les maladies fongiques

- **Aspergillose** : L'aspergillose est une maladie infectieuse respiratoire due aux champignons du genre *Aspergillus* et est considérée comme non contagieuse. Elle se traduit de manière classique par une forme aiguë chez le jeune, associée à une importante morbidité et mortalité et par une forme plutôt sporadique et chronique chez l'adulte souvent à mettre en lien avec une immunodépression. LATGE JP :(1999).
- **Candidose** : Il s'agit d'une infection des premières voies digestives due à la prolifération d'un champignon de type levure: *Candida albicans*, sous forme de filaments enchevêtrés. Ce germe se rencontre dans toutes les espèces aviaires mais il est strictement endogène et ne se trouve pas dans le milieu extérieur (Didier V;2001).

D'autres maladies peuvent apparaître à cause des carences en vitamines notamment les vitamines A, E, K et B ou à cause d'un manque de sels minéraux tels que le calcium, le phosphore, le zinc et le manganèse.

Partie II : Les probiotiques en aviculture

I-Histoire d'utilisation des probiotiques en alimentation animale

Le concept probiotique est né de la théorie de la longévité d'Elie Metchnikoff en 1908 affirmant que les bactéries lactiques pourraient avoir divers effets bénéfiques sur la santé induisant une grande longévité. Les probiotiques ont d'abord été développés dans les années 1960 pour les élevages d'animaux afin de prévenir les infections et stimuler le gain de poids, leur utilisation a été encouragée par le Comité Swann en 1969 qui recommandait de restreindre l'usage des antibiotiques en alimentation animale à la seule fin thérapeutique, par la nécessité de faire face aux conséquences d'une production animale toujours plus intense et stressante pour les animaux (économie d'échelle, augmentation de la taille des élevages, concentration des animaux, sevrage précoce, ...). Au début des années 1990, on observe un déclin de l'utilisation des probiotiques sur le marché européen. Cette première vague d'utilisation des probiotiques en alimentation animale jusqu'en 1993 a été définie par **Bernardeau et Vernoux (2009)** comme « la première génération de probiotiques », caractérisée par une efficacité supposée et un cadre réglementaire peu adapté. L'absence d'efficacité (**Simon et al., 2001**), de compréhension du mécanisme d'action et le manque de données scientifiques ont amené les professionnels de la production animale (vétérinaires, nutritionnistes, éleveurs) à considérer le concept probiotique avec grand scepticisme (**Bernardeau et Vernoux, 2009**). Les productions animales connaissent entre 1980 et 2000, une série de crises qui va remodeler complètement le paysage réglementaire, aussi bien au niveau institutionnel (création de l'AFSSA – Agence Française de Santé et Sécurité Alimentaire en France 1998 et l'EFSA – European Food Safety Agency au niveau européen en 2002) que législatif (refonte complète de la réglementation de l'utilisation des additifs en alimentation animale – Dir. 70/524/EC et clarification de l'utilisation des microorganismes comme additifs Reg. 1831/2003/EC). Cette nouvelle réglementation très rigoureuse exige de la part des industriels des données scientifiques et technologiques incluant la démonstration de l'innocuité des micro-organismes (pour l'animal, le travailleur, le consommateur et l'environnement) et la preuve de leur efficacité en accord avec les revendications zootechniques et/ou digestives (**Mantovani et al., 2006**). Les trois volets du dossier d'enregistrement européen appliqués aux probiotiques son identité et qualité, processus de fabrication et stabilité du probiotique, sécurité pour l'espèce cible, le manipulateur, le consommateur et l'environnement ; l'efficacité qui est décrite par l'espèce cible, les conditions, les doses d'utilisation, les performances revendiquées ainsi que le mécanisme d'action possible.

La difficulté scientifique, la charge financière et la complexité des dossiers d'autorisation ont définitivement mis un terme à l'utilisation abusive et non fondée des probiotiques en alimentation animale. Apparaissent alors sur le marché, des probiotiques plus sûrs, plus efficaces et plus transparents que **Bernardeau et Vernoux (2009)** caractérisent de «probiotiques de deuxième génération».

II-Définition des probiotiques

Le terme "probiotique" signifie "en faveur de la vie" et ce sont des « microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte ». La première définition officielle a été proposée par **Fuller en 1989**, qui définit un probiotique comme étant « un supplément alimentaire microbien vivant qui affecte positivement la santé de l'animal en améliorant sa balance microbienne intestinale ». Cette définition a été révisée plusieurs fois, notamment par la **FAO** (Food and Agriculture Organization) et la **WHO** (World Health Organization). En 2001, leur nouvelle définition s'énonce comme suit : « Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administré en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte ».

III-Les critères de sélection des probiotiques

Les microorganismes doivent posséder diverses propriétés de survie pour répondre à la définition des probiotiques (**Gagnon 2007**). Ils doivent présenter une activité positive et persister durant leur passage dans le tractus digestif. Ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolables d'une souche à l'autre même au sein d'une même espèce (**Dunne, O'Mahony et al., 2001**). Plusieurs critères majeurs de sélection ont été établis par différents auteurs dans le but de sélectionner les souches potentiellement probiotiques.

Ces critères (résumé dans le tableau ci dessus), sont réparties en trois catégories à savoir les critères de sécurité, fonctionnels et technologiques.

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

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none">• Identification taxonomique précise.• Histoire de non pathogénicité et non-invasion d'épithélium intestinal.• Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques.• Pas de transmission possible de gène de résistance aux antibiotiques.
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none">• Tolérance à l'acidité gastrique, à la bile et aux enzymes digestifs.• Production des substances antimicrobienne : bactériocine, acides organiques ou d'autres composés inhibiteurs et antagonisme envers les pathogènes.• Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus intestinal.• Stimulation de système immunitaire.• Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé.
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none">• Stabilisation au cours de procédés de production et dans le produit fini.• Conservation des propriétés probiotiques après production.• Non modification des propriétés organoleptiques du produit fini.

IV-Les principaux microorganismes probiotiques utilisés en alimentation animale

De nombreuses espèces microbiennes ont été utilisées en tant qu'agents probiotiques. Ces espèces appartiennent aux bactéries du genre *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, et aux levures du genre *Saccharomyces*. Les microorganismes utilisés en alimentations animale diffèrent sensiblement de ceux utilisés en alimentation humaine. C'est variation intègrent les différences d'ingestion, des contraintes de fabrication et de stockage ou encore la réglementation. Les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont majoritairement utilisés pour des applications en nutrition humaine, alors que les genres *Bacillus*, *Enterococcus* et *Saccharomyces* sont les microorganismes les plus utilisés dans les élevages (Simon et al., 2001). Les souches de *Bacillus*, plus stables car sporulées, sont plus à même de résister aux processus d'incorporation dans l'aliment, aux

paramètres de granulation et aux conditions non exigeantes de stockage « longue durée » des aliments pour animaux (Simon, 2005). Inversement, les cellules végétatives sont beaucoup plus sensibles, ce qui explique que les lactobacilles et les bifidobactéries, ont été moins utilisées au début en alimentation animale.

Ainsi les lactobacilles, avec une grande diversité d'espèces, représentent aujourd'hui 21% des souches utilisées comme additifs en alimentation avicole, 3^{ème} groupe microbien après les genres *Bacillus* et *Enterococcus* représentant chacun 29% des utilisations. (Figure 2).

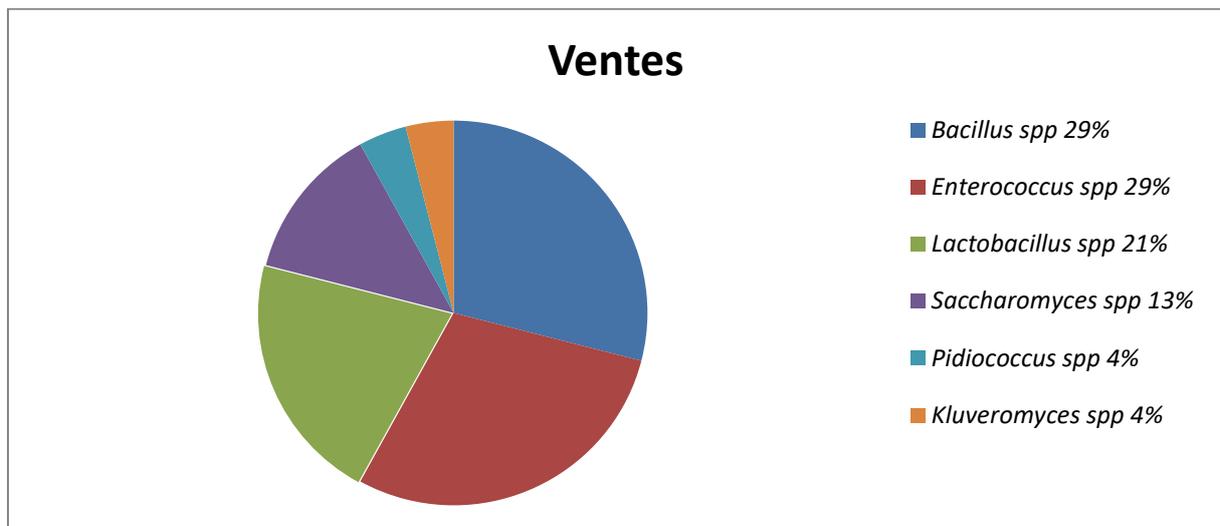


Figure 2 : Représentation des différents genres microbiens autorisés en tant qu'additifs en alimentation avicole en Europe (adapté d'AFCA-CIAL, Mars 2009).

IV.1. Les différents microorganismes probiotiques en aviculture

En alimentation animale de nombreux genres bactériens et fongiques incluant *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces* et *Aspergillus* sont utilisés, comme probiotiques (Tannock 1997). En général, les souches probiotiques sont sélectionnées pour leurs effets bénéfiques sur la santé tout en assurant leur sécurité d'utilisation (innocuité). L'utilisation commerciale de probiotiques élevages industriels des volailles est relativement nouvelles. Comme pour les autres animaux, l'utilisation des probiotiques s'est développée à la suite des recherches effectuées sur le tractus gastro-intestinal qui ont permis une meilleure compréhension du rôle de la microflore et de son importance sur la santé et l'hygiène digestive des animaux (Gaggia, Mattarelli *et al.*). Les différentes études réalisées sur des volailles ont montré que les probiotiques exercent des activités antibactériennes contre diverses bactéries pathogènes notamment celles responsables d'infection chez les poulets dont *Salmonella* sp (Van Immerseel, Cauwerts *et al.*, 2002 ; Higgins *et al.*, 2008), *Campylobacter* et *Escherichia coli* (Zacconi, Scolari *et al.*, 1999 ; Ragione, Narbad *et al.*, 2004). L'administration de *Lactobacillus salivarius*

A23 à des poussins a permis d'augmenter le taux des Lactobacilles dans le jabot dès le premier jour d'administration. Par contre, aucune augmentation significative n'a été observée au niveau du caecum. Ceci signifie que ce probiotique colonise préférentiellement le jabot (**Zacconi, Scolari et al., 1999**). L'administration d'une préparation brute de microflore caecale a permis de protéger les animaux contre des infections à *Salmonella typhimurium* et à *Salmonella enteritidis* (**Andreatti, da Silva et al., 2000 ; Higgins et al., 2008**). *Enterococcus faecium* J96, une souche probiotique isolée de l'intestin d'une poule a permis de réduire le taux de croissance de *Salmonella pullorum*, *S. gallinarum*, *S. typhimurium* et *S. enteritidis* in vitro. L'administration orale de 10⁹ UFC de cette souche à des poussins de 30h d'âge leur a permis de résister à une infection à *S. pullorum* (**Audisio, Oliver et al., 2000**).

L'administration simultanée de *Salmonella enteritidis* et *Lactobacillus salivarius* CTC2197 par voie orale à des poussins d'un jour a permis une élimination complète des Salmonelles (**Zacconi, Scolari et al., 1999**).

V-Efficacité des probiotiques en aviculture

L'emploi des probiotiques en aviculture a pour but d'améliorer l'état sanitaire et performances zootechniques des poules tel que, l'augmentation de gain de poids, la diminution de l'indice de consommation, et pour avoir le bien-être des animaux par la réduction de la fréquence des diarrhées ou de la mortalité durant certaines phases critiques d'élevage : stress alimentaire, changement de régimes alimentaire, stress sanitaires (**Ahmad,2006 ; Fuller,1989**).

V.1. Efficacité sanitaire

Leur efficacité première se situe au niveau de l'aspect sanitaire. Les probiotiques exercent des activités antibactériennes contre divers bactéries pathogènes et notamment contre les microorganismes fréquemment responsable d'infection chez les poulets : *Salmonella sp*, *Compylobacter*, *Esherichia coli*. (**Van immerseel et al., 2002 ; Van immerseel et al., 2005**).

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

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

- D'autres bactéries que les lactobacilles ont un effet probiotique. Tel est le cas d'*Enterococcus faecium* souche J96 isolée de l'intestin d'une poule. Cette souche réduit le taux de croissance de *Salmonella pullorum*, *S. gallinarum*, *S. Typhimurium* et *S. enteritidis in vitro*. L'administration de 10^9 UFC de cette souche à des poussins de 30h leurs permet de survivre à un challenge 24h plus tard avec 10^5 UFC de *Salmonella pullorum* (Audisio et al., 2000 cité par Van immerseel, 2003).
- *Lactobacillus salivarius* additionnée aux suspensions fécales affecte positivement le poids des poussins et l'exclusion compétitive des Salmonelles (Zacconi et al., 1999). De la même façon une suspension fécale permet de protéger les poussins contre une colonisation par les souches : *S. Typhimurium*, *S. agona*, *S. infantis* et *S. enteritidis* (Oliveira et al., 2000 ; Denis et al., 2004).

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

V.2. Efficacité zootechnique

Plusieurs articles ont montré que les probiotiques dans les régimes pour poulets de chair améliorent les performances de croissance par rapport aux régimes non supplémentés, étant aussi efficaces que les promoteurs de croissance antibiotiques (Kalavathy et al., 2003, Mountzouris et al., 2010, Shim et al., 2010).

V.2.1. Equilibre de la flore intestinale

L'utilisation des probiotiques a pour but d'obtenir un bon équilibre de la flore intestinale. Cet équilibre agit sur la croissance et le développement de l'animal, l'influence des besoins nutritionnels, l'affection de la morphologie du tractus digestif, la modification des substances endogènes et exogènes contenues dans la lumière intestinale et la multiplication des germes, pathogènes ou non (Shaedler, 1973). Dans le cas de *Pediococcus acidilactici*, des études montrent une amélioration des performances des poulets ainsi que des effets positifs sur l'équilibre de la flore intestinale (Jin et al., 1998; Vittorio et al., 2005).

V.2.2. Effet sur la qualité du produit

Dans le poulet de chair, les espèces probiotiques appartenant au genre *Lactobacillus* peuvent avoir un effet bénéfique sur l'amélioration des caractéristiques sensorielles et la qualité microbiologique de la viande. Dans une étude menée par Pelicano et al. (2003) sur l'effet des probiotiques sur différentes carcasses de poulets et de qualité de la viande, montre que la qualité de la viande était meilleure dans le lot probiotiques à l'eau ou à l'alimentation. Ainsi, l'analyse sensorielle a montré que la saveur de la viande était

meilleur quand les probiotiques ont été ajoutés à la fois dans l'eau et l'alimentation après 72h de l'abattage.

Tableau IV : Exemples d'effets probiotiques démontrés en élevages avicole (adapté de Bernardeau *et al.*, 2006).

Animal	Souches probiotiques	Commentaires	Références
Dinde	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus</i> sp. 	Augmente le gain de poids. Diminue les couts de production	Torres-Rodriguez et al., 2007
Poulet de chair	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus</i> • <i>Bifidobacterium</i> • <i>Enterococcus</i> • <i>Pediococcus</i> 	Augmente les paramètres de performance zootechniques. Module la composition de la microflore du caecum.	Mountzouris et al., 2007
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pidiococcus acidilactici</i> • <i>Saccharomyces boulardii</i> 	Améliore la résistance aux coccidioses en augmentant l'immunité humorale.	Lee et al., 2007
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Bacillus subtilis</i> • <i>Bacillus licheniformis</i> 	Augmente le gain de poids, le taux de conversion, la taille de villosités dans l'ileum.	Salmi et al., 2007
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus johnnsonii</i> 	Contrôle les entérites nécrotiques endémiques dues à <i>Clostridium perfringens</i> , réduisant les pertes économiques et l'utilisation d'antibiotiques.	La Ragione et al., 2004
Poules pondeuses en fin de période	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus</i> sp 	Augmente la production d'œufs, diminue la mortalité, améliore le taux de conversion mais pas la qualité des œufs	Yoruk et al.,2004

MATERIEL et METHODES

Le but de cette étude était de réaliser une enquête sur les conditions d'élevage de poulet de chair dans la wilaya de Bejaïa ainsi que d'isoler des souches de bactéries lactiques à caractère probiotique à partir de fiente de poulets. Notre travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Bejaïa.

I-Enquête

Afin de recensé les problèmes rencontrés par les éleveurs dans l'élevage du poulet de chair et les maladies rencontrées au cours de ces élevages nous avons réalisé une enquête.

I.1. Modalités de recueil de données

Cette enquête à été réalisée au niveau de la Wilaya de Bejaïa, par des rencontres directes et par distribution de questionnaires (voir l'annexe N°III).

De façon générale, ce questionnaire a fait appel pour la majorité des questions au système de choix multiples (QCM), L'éleveur et le vétérinaire n'ayant qu'à cocher la case correspondante à son choix, ce système permet une meilleure compréhension des paramètres d'élevage des poulets de chair.

I.2. Mise en forme/ saisie des données

Après collecte des questionnaires remplis, ces derniers ont été classés selon les réponses obtenues pour chacun des paramètres traités. L'ensemble des données recueillies ont été saisies et stockées dans un fichier Microsoft Excel.

I.3. Paramètres étudiés dans cette enquête

- Région d'étude
- Les pathologies les plus fréquentes en élevage du poulet de chair.
- La saison et la période où la maladie est plus fréquente.
- Les maladies virales les plus fréquentes.
- Les maladies parasitaires les plus fréquentes.
- Les maladies bactériennes les plus fréquentes.
- Le type de traitement utilisé.
- L'alimentation du poulet de chair.
- La durée de l'élevage.
- Les antibiotiques utilisés.
- Le taux de mortalité.
- Programme Vaccinal.
- L'application et l'exploitation des probiotiques dans le milieu des éleveurs.

II-Isolement des bactéries lactiques

II.1. Collection des échantillons

La niche écologique utilisée, pour l'isolement de bactéries lactiques, est la fiente de poulets, âgés entre 4 mois et 3ans. 8 échantillons de fiente a été collectée dans 2 communes de la wilaya de Bejaïa (6 échantillons collectés dans différentes régions d'Ighil l'borj de la commune de Bejaïa et 2 échantillons dans la région de Bourzazen de la commune de Souk el-tnine). (Tableau V).

Tableau V : Origine des prélèvements de fiente de poulet.

Nom de l'échantillon	âge	Type d'alimentation	Type de traitement	Origine des prélèvements
P1/F	14 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj
P2/F	3 ans	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj
P3/F	2 ans	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj
P4/F	3 ans	Traditionnelle	Aucun	Bourzazen
P5/F	2ans	Traditionnelle	Aucun	Bourzazen
P1/M	4 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj
P2/M	4 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj
P3/M	6 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj
P : prélèvement ; F : femelle (poule pondeuse) ; M : mâle (poulet de chair)				

Les prélèvements des échantillons de fiente ont été réalisés par la méthode d'écouvillonnage (à l'aide des écouvillons stériles la fiente a été prélevée à la surface sans toucher le sol). Les prélèvements sont transportés au laboratoire afin de réaliser un isolement de souches de bactéries lactiques.

II.2. Enrichissement et isolement

Au niveau du laboratoire, la fiente recueillit a été déposée dans 5ml du bouillon MRS afin de faire un enrichissement. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h à 48h.

Au terme d'incubation des bouillons d'enrichissement, un isolement en stries sur gélose MRS a été réalisé. Une incubation est effectuée à 37°C pendant 48 à 72h.

II.3. Purification des isolats

La purification des isolats consiste à faire des repiquages successifs (gélose ↔ bouillon) jusqu'à l'obtention d'une culture pure de colonies caractéristiques et bien isolées en vérifiant séquentiellement la forme, la taille et la couleur.

Afin de sélectionner les isolats probablement appartenant aux BL, une étude des caractères morphologiques (examen macroscopique et microscopique après coloration de Gram) et la recherche de la catalase est réalisée.

III. Etude des caractères morphologiques

III.1. Examen macroscopique

Il consiste à décrire les colonies obtenues après culture sur gélose MRS de l'isolat bactérien pendant 48 à 72h selon : la taille, la pigmentation, le contour, l'aspect...

III.2. Examen microscopique

L'examen microscopique consiste à la réalisation d'une coloration de Gram, celle-ci permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatif (G-) et les bactéries Gram positifs (G+).

IV. Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement de l'oxygène. Son action directe est mise en évidence dans la masse bactérienne (**Guiraud, 1998**).



Pour réaliser ce test, une colonie d'une culture bactérienne à tester a été émulsionnée dans l'eau oxygénée sur lame. La présence de la catalase se manifeste par l'apparition d'une mousse renseignant sur la présence de bulles d'oxygène.

Les isolats catalase (-) et Gram (+) sont considérés préalablement comme des bactéries lactiques et à ce niveau un exemplaire de souches est conservé dans des eppendorfs contenant le bouillon MRS additionné de glycérol à - 20°C, un autre exemplaire de souche est conservés à 4°C pour la suite du travail.

Les isolats présentant les caractéristiques des BL sont sélectionné pour la suite du travail.

V-Evaluation des aptitudes probiotiques *in vitro*

V.1. Etude de l'activité antimicrobienne

Afin d'étudier l'activité antimicrobienne des souches de BL isolées, un test de spots a été réalisé.

V.1.1. Revivification et standardisation des souches pathogènes

Afin d'étudier l'effet antimicrobien, 4 souches de bactéries pathogènes (*E. coli*, *S. aureus*, *S. Typhi* et *Aspergillus sp*) appartenant à la collection du laboratoire LMA ont été utilisées.

La revivification des souches pathogènes est réalisée par des repiquages successifs, dans bouillon et gélose nutritive jusqu'à l'obtention d'une culture fraîche. Ces souches cibles, étaient conservées dans des bouillons nutritifs à (+4°C). Leur revivification consiste à transférer 1ml de la culture de chacune d'elles dans 9 ml du bouillon nutritif, ces bouillons sont incubés à 37°C, pendant 24h, puis un isolement est réalisé sur gélose nutritive. Cette opération est répétée plusieurs fois, afin d'avoir des cultures fraîches revivifiées.

A partir des cultures de 24h sur gélose nutritive, une colonie de chacune des souches pathogènes est mise dans 9 ml de bouillon nutritif, puis incubées à 37°C pendant 18h heures. Un dénombrement est réalisé au terme de l'incubation.

V.1.2. Test de spots

Selon Fleming *et al.*, (1975), ce test consiste à cultiver les deux souches dans le même milieu en double couche. Après avoir rempli les boîtes de Petri avec la gélose MRS (solidifiée et séchée), 5µl de la culture bactérienne obtenue après 18 heures d'incubation à une température de 37°C est déposée en spots. Les géloses sont séchées près du bec benzün pendant quelques minutes puis incubées à 37°C pendant 18 heures.

Au terme de l'incubation, les spots sont recouverts par une couche de 9 ml de gélose nutritive qui contient 1 ml (10^7 UFC/ml) de la suspension de bactérie cible. Au terme d'une incubation de 18h à 37. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

Le test de spots est réalisé pour toutes les souches en premier lieu vis-à-vis *E. coli*. Selon les résultats obtenus, les souches ayant montrées des zones d'inhibition les plus importantes ont été retenues pour être testée vis-à-vis *S. aureus* puis celles ayant montrée une meilleure activité vis-à-vis *S. aureus* ont été testées vis-à-vis *S. Typhi* et *Aspergillus sp*.

Les souches ainsi sélectionnées sont retenues pour la suite de l'étude (type de fermentation, thermorésistance, résistance à l'acidité gastrique, résistance aux sels biliaires, résistance aux antibiotiques).

V.2. Type de fermentation

Ce test permet de classer les bactéries en hétérofermentaire ou homofermentaire. Après un isolement sur gélose MRS et après une incubation de 72h à 37°C, une colonie de chaque souche est ensemencée dans le bouillon MRS avec cloche de Dhuram. Le dégagement du gaz par les bactéries hétérofermentaires s'accumule dans la cloche après incubation à 37°C pendant 24 à 48h (Garvie, 1986).

V.3. Thermorésistance

Ce test permet de sélectionner des souches résistantes à une température de 60°C pendant 30min.

Après un isolement sur bouillon MRS d'une incubation à 37°C pendant 48h, une colonie bien distincte de chaque souche est ensemencée séparément dans 9ml du bouillon MRS. Ces derniers sont introduit dans un bain marie à une température de 60°C pendant 30min, ensuite les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h. Un résultat positif se traduit par un trouble après incubation (De Roissard et al., 2006).

V.4. Résistance à l'acidité gastrique

La survie des bactéries dans le tube digestif dépend de leur capacité à tolérer les pH bas, cependant, quelques auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2 dans un milieu de culture pendant quatre heures (Ammor et Mayo, 2007).

La capacité des BL à survivre dans les conditions stimulées gastrique est effectuée comme suit : les bouillons de culture fraîche de chaque souche ont été centrifugés à 5000rpm pendant 20min à froid. A la fin de la centrifugation, les surnagants sont écartés et les culots sont resuspendus dans du bouillon MRS à différent pH (2, 2.5, 3, 4). Les tubes ont été incubés pendant 4h.

Afin de voir si les souches sont réellement résistantes, au bout des 4h d'incubation, un exemplaire de tubes est incubé pendant 24h à 37°C, l'intensité du trouble est comparée à un témoin de chaque souche. En parallèle, au bout de 4h d'incubation un ensemencement est réalisé sur gélose MRS. Au terme d'incubation à 37°C pendant 24 à 48h une lecture est réalisée.

V.5. Résistance aux sels biliaires

Parmi les contraintes que doit surmonter une souche probiotique, c'est la résistance à la bile (**Chafia, 2006**). Pour tester cette caractéristique le protocole décrit par **Hyronimus et al (2000)** est réalisé.

Une culture fraîche de chaque souche bactérienne a été centrifugée à 5000rpm pendant 20min et les culots ont été récupérés et un ajout du bouillon MRS additionnés de 0.3% des sels biliaires aux culots, et incubés pendant 4h.

Afin de voir si les souches sont réellement résistantes, au bout des 4h d'incubation, un exemplaire de tubes est incubé pendant 24h à 37°C, l'intensité du trouble est comparée à un témoin de chaque souche. En parallèle, au bout de 4h d'incubation, un ensemencement sur gélose MRS est réalisé. Au terme d'incubation à 37°C pendant 24 à 48h une lecture est effectuée.

VI-Evaluation de l'aspect de sécurité

VI.1. Activité hémolytique

L'activité hémolytique des souches bactériennes a été déterminée par la méthode de **Maragkoudakis et al., (2006)**. Des cultures d'une nuit des souches bactériennes ont été ensemencées en stries sur des boîtes contenant la gélose au sang frais (ramenées de CHU Khelil Amrane) et incubées à 37°C pendant 24h à 48h. Après incubation, les boîtes ont été examinées pour des signes de β -hémolyse (zones claires autour des colonies), α -hémolyse (zones avec reflets verdâtres autour des colonies).

VI.2. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques des BL a été évaluée par la méthode de diffusion en disque selon **Charteris et al., (1998)**. Les BL ont été testées vis-à-vis 5 antibiotiques à savoir : ampicilline (10 μ g), amoxicilline (20 μ g), cefoxitine (30 μ g), clindamycine (2 μ g), triméthoprim-sulfaméthoxazole (25 μ g), sélectionnés selon l'enquête, et selon la disponibilité.

Pour réaliser ce test, un repiquage de souches bactériennes sur un bouillon MRS pendant 24h a été réalisé, puis un ensemencement en surface par un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne repiquée a été réalisé, sur gélose MRS en boîte de Pétri. Ensuite, les boîtes ont été laissées au frigo à 4°C pendant 2h pour assurer la diffusion des antibiotiques, puis les boîtes ont été incubées pendant 24h à 37°C. Après incubation, les zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques ont été mesurées, et les résultats obtenus sont comparés au tableau ci-dessus.

Tableau VI : Concentration et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques (CASFM, 2013).

Antibiotique	Charge de disque	Concentration critique (mg/l)		Diamètre critique (mm)	
		S	R	S	R
Ampicilline	10µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 16
Amoxicilline	25µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 16
Céfoxitine	30µg	≤ 8	> 2	≥ 22	< 15
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
Clindamycine	2 UI	≤ 2/38	> 8/52	≥ 16	< 10

RESULTATS et DISCUSSION

I-Enquête

L'objectif de notre travail est de faire une enquête par le biais d'un questionnaire destiné aux éleveurs et aux vétérinaires sur les différentes pathologies les plus rencontrées en élevage de poulet de chair dans la région de Bejaïa.

D'après cette enquête nous avons relevés les points suivants : l'activité avicole est principale chez la plus part des éleveurs ainsi des vétérinaires notamment l'élevage de poulet de chair.

I.1. Région d'étude

Les résultats ont été mis dans le tableau VII comporte le nombre et le pourcentage des réponses, 15 éleveurs, dont 3 sont également des vétérinaires.

Tableau VII : Région d'étude de l'enquête.

Région	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Amizour	4	27 %
Aokas	3	20 %
Béjaia Ville	2	13 %
Boukhelifa	2	13 %
El Kseur	1	7 %
Tazmalt	2	13%
Oued Ghir	1	7 %

I.2. Les pathologie les plus fréquentes en élevage de poulet de chair

Les résultats dans le tableau VIII ont montré que les pathologies les plus fréquentes en élevage sont celles d'origine bactérienne avec 47%.

Tableau VIII : Pourcentage des maladies les plus fréquentes en élevage du poulet de chair

Paramètres	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Maladies bactériennes	7	47%
Maladies Virales	5	33%
Maladies parasitaires	3	20%

Nos résultats (tableau IX) montrent que la maladie de Coccidiose (33%) est plus fréquente suivie par la bronchite infectieuse et la grippe aviaire (27%) viennent par la suite les autres maladies. Notre étude se rapproche de l'étude de (KERMIA, OUACHEM 2020) qui a

monté que la maladie de Coccidiose (22.5%) est plus fréquente suivie par la maladie de Gumboro (17.5%), bronchite infectieuse (17.5%) et la maladie de mycoplasmosse (12.5%).

Tableau IX : Pourcentage des pathologies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair.

Paramètres	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Coccidiose	5	33%
Bronchite Infectieuse aviaire	4	27%
Gumboro	0	0%
Grippe aviaire	4	27%
Salmonellose	2	13%
Autres	0	0%

I.3. Les saison d'apparition des maladies

D'après nos résultats illustrés dans le tableau X nous avons constatés que les pathologies en élevage de poulet de chair sont plus fréquentes durant la saison d'été et d'hiver avec un taux de 60% et 27% respectivement.

Tableau X : Pourcentage d'apparition des pathologies en fonction de la saison.

La saison	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Hiver	4	27%
Printemps	0	0%
Eté	9	60%
Hiver	2	13%

Les résultats montrent que les pathologies les plus fréquentes en élevage de poulets de chair sont d'origine bactérienne surtout au cours de la saison d'été et d'hiver dont les pathologies est présente durant toute l'année mais, il semblerait qu'elle devient plus importantes en période chaude correspondant à la saison sèche et le début de la saison pluvieuse. Cela peut s'expliquer par le fait que la chaleur influe la stabilité des vaccins vivants et les changements climatique en début de saison froide qui constituent un stress fragilisant les poussins (Cardinale, 1994).

I.4. Type de traitement utilisé

Selon les résultats obtenus tableau XI on a remarqué que 80% des éleveurs et vétérinaires utilisent des traitements curatifs, par contre seulement 20% l'utilisent sous-titre préventif.

Tableau XI : Pourcentage de type de traitement utilisé en élevage de poulet de chair.

Paramètres	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Curatif	12	80%
Préventif	3	20%

I.5. Type d'alimentation du poulet de chair

Selon les résultats représentés dans le tableau XII on remarque que 93% utilisent une alimentation industrielle et seulement 7% utilisent une alimentation artisanale.

Tableau XII : Pourcentage de type d'aliment utilisé en élevage du poulet de chair.

Paramètres	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Industriel	14	93%
Artisanal	1	7%

I.6. Composition de l'alimentation industrielle du poulet de chair

Tableau XIII : Composition de l'aliment industriel du poulet de chair.

Eléments d'alimentation	Ingrédients
Protéiques	-Tourteau de soja -L'huile de soja
Energiques	- Maïs, orge, blé
Minéraux	-Phosphate, calcium -sodium chlore (sel)
Additifs	-Anticoccidiens - les compléments minéralo-vitaminique - Antiseptiques (dans l'eau)

Les deux éléments les plus importants dans l'alimentation du poulet de chair sont protéiques et énergiques, un apport abondant et continu des protéines est nécessaire à la croissance du poulet de chair, pour entretenir et développer leurs tissus ainsi que pour fournir diverses productions qui en sont attendues.

Les besoins énergétiques pour la croissance comprennent les besoins en énergie pour l'entretien, l'activité et la constitution des tissus corporels nouveaux. Pour obtenir un niveau de croissance suffisamment appréciable, il faut tout d'abord satisfaire les besoins énergétiques pour l'entretien et l'activité du poulet (**Kouamé, 2009**).

Le développement corporel du poulet de chair est d'autant plus rapide que la consommation quotidienne d'énergie métabolisable est élevée. L'ingéré énergétique journalier dépend évidemment des besoins de l'animal, mais également de la présentation de l'aliment et de sa teneur en énergie (**Dongmo, 2009**).

I.7. Respect des phases de croissance (démarrage, croissance, finition)

Selon les résultats du tableau XIV, on constate que 100% des éleveurs respectent les 3 phases (démarrage, croissance, finition).

Tableau XIV : Pourcentage de respect des phases de croissance.

Paramètres	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Oui	15	100%
Non	0	0%

Selon **Tesseraud, (1999)**, Le développement du tractus gastro-intestinal est un phénomène prioritaire dans le développement général du poussin. Ainsi durant les 4 premiers jours de vie, un quart des protéines absorbées est retenu par l'intestin, durant la phase de croissance l'aliment démarrage sera remplacé par une ration moins riche en protéine.

L'aliment de croissance sera remplacé durant la phase de finition par un aliment moins concentré en protéine et plus riche en énergie tout en respectant l'équilibre énergétique/protéique (**Sanchez, 2000**).

I.8. Durée de l'élevage

Les résultats du tableau XV montrent que la durée de l'élevage chez 53% des éleveurs est de 55-60 jours.

Tableau XV : Pourcentage de la durée d'élevage.

Durée	Nombre d'éleveur	Pourcentage
0-45jours	4	27 %
45-55jours	3	20%
55-60jours	8	53%

I.9. Taux de mortalité

Le taux de mortalité est un facteur important de rentabilité puisqu'il influence aussi bien l'indice de consommation que le prix de revient. Le taux de mortalité exprimé en pourcentage (%) est calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{TM (\%)} = \text{Nombre de sujets morts} / \text{Nombre de sujets mis en place}$$

Sur un effectif de 60000 sujets (Aokas) Les résultats de mortalité enregistrés sont présentés par le tableau XVI ils montrent que le nombre total des sujets morts durant la période d'élevage est de 1558 ce qui représente 2.59% qui est une faible mortalité. Nos résultats sont donc complètement dans les normes, **Lazaro (2003)** a estimé la mortalité à 5%.

Tableau XVI : Pourcentage de taux de mortalité en élevage de poulet de chair.

âge	Mortalité	Pourcentage
0j – 20j	800	1.33%
20j – 45j	650	1.08%
45j – 60j	108	0.18%
Total	1558	2.59%

I.10. Usage d'antibiotique

Selon les résultats du tableau XVII, 87% utilisent les antibiotiques et 13% ne les utilisent pas.

Tableau XVII : Pourcentage d'utilisation ou non des antibiotiques en élevage de poulet de chair.

Paramètre	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Oui	13	87%
Non	2	13%

I.10.1. Type d'antibiotique utilisé en élevage de poulet de chair

Le tableau ci-dessous représente les antibiotiques utilisés chez les éleveurs et la posologie.

Tableau XVIII: Les antibiotiques utilisés en élevage de poulet de chair.

L'antibiotique	Jours	La dose
Amoxicilline (Vetrimoxine)	J5	50ml / 100L d'eau
Enrofloxacin (Baytril)	J1	100g / 500L d'eau
Doxycycline (Doxy-max 50)	J7	300g / 1000L d'eau
Oxytétracycline (Neoxyne)	J14	10g / 100kg dans l'aliment ou dans l'eau

L'usage des antibiotiques (comme tout médicament vétérinaire) a pour objectif de maintenir les animaux en bonne santé et de contribuer à leur bien-être. Effectivement selon **Dehaumon, (2005)** ces médicaments permettent de contrôler le niveau sanitaire et d'assurer la qualité et la productivité dans les élevages mais l'usage excessif et en tant que additifs présente un danger pour l'animal et pour le consommateur, en effet l'antibiorésistance entraîne des millions de décès humains par an dans le monde.

I.11. Programme de vaccination

Durant les jours de la vaccination, une administration d'une complexe vitaminique a été effectuée pour atténuer le stress vaccinal et ceux du lors de manipulation des animaux.

Tableau XIX : Programme de vaccination.

Date	Vaccins	Valence	Administration
J1	Innovax ND-IBD Nobilis H9N2 Nobilis MA5- Clone30	Gumboro Influenza Aviaire Newcastle, Bronchite	Injection SC Injection IM ou SC Nébulisation ou eau de boisson
J7 – J10	Nobilis D78 Nobilis H9N2	Gumboro Influenza Aviaire	Eau de boisson Injection IM ou SC
J14	Nobilis IB 4-91 + Nobilis ND Clone30	Bronchite variant+ Newcastle	Nébulisation ou eau de boisson
J16	Nobilis 228E	Gumboro	Eau de boisson
J35	Nobilis ND Clone30	Newcastle	Nébulisation ou eau de boisson

I.12. Application et exploitation des probiotiques dans le milieu des éleveurs

Nos résultats (tableau XX et XXI) montrent que seulement 27% connaissent les probiotiques, et que 87% sont intéressés par cette alternatives aux antibiotiques

I.12.1. Connaissance des probiotiques dans le milieu des éleveurs

Le tableau XX montre que seul 27% qui connaissent les probiotiques.

Tableau XX : Pourcentage de connaissance des probiotiques chez les éleveurs.

Paramètre	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Oui	4	27%
Non	11	73%

I.12.2. L'attention des éleveurs par les probiotiques

Les résultats dans le tableau XXI montrent que 87% sont prêt a utilisé les probiotiques.

Tableau XXI : Pourcentage d'exploitation et d'utilisation des probiotiques chez les éleveurs.

Paramètre	Nombre d'éleveur	Pourcentage
Oui	13	87%
Non	2	13%

II-Isolement de bactéries lactiques

II.1. Enrichissement et isolement

Sur les 8 échantillons de fiente récoltée des 2 régions rurales (Ighil elborj commune de Bejaia, Bourzazen commune de Souk el-tenin) enrichis dans le bouillon MRS, tout les tubes ont présentés un trouble après 24h d'incubation à 37°C.

Tableau XXII: Résultat de l'enrichissement des échantillons de fiente dans le bouillon MRS.

Nom de l'échantillon	âge	Type d'alimentation	Type de traitement	Origine des prélèvements	Résultat après enrichissement
P1/F	14 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj	+
P2/F	3 ans	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj	+
P3/F	2 ans	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj	+
P4/F	3 ans	Traditionnelle	Aucun	Bourzazen	+
P5/F	2ans	Traditionnelle	Aucun	Bourzazen	+
P1/M	4 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj	+
P2/M	4 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj	+
P3/M	6 mois	Traditionnelle	Aucun	Ighil l'borj	+

(+): présence de troubles dans les tubes après incubation

L'isolement sur gélose MRS dans des boîtes de Petri a conduit à l'apparition des colonies après 48h d'incubation, par contre l'échantillon P1/M des petites colonies sont apparues après 72h d'incubation, et aucune croissance n'est obtenue pour l'échantillon P3/M même après 72h.

II.2. Purification des isolats

Les isolements répétitifs sur gélose ont permis d'obtenir 30 isolats purs, à raison de 5 isolats par échantillon.

Néanmoins, les isolats obtenus à partir de selles de poules a conduit a l'apparition des colonies sur gélose MRS, cependant, un seul isolat obtenu à partir de poulet de chair (P2/M) prélevé de la région d'ighil elborj a montré une croissance après purification.

III- Etude des caractères morphologiques

III.1. Examen macroscopique

Les cultures obtenues sur les boîtes de Petri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies (**Badis et al., 2004**).

L'observation macroscopique des colonies des 30 isolats, obtenus sur gélose MRS, a révélé plusieurs types de colonies avec différentes formes.

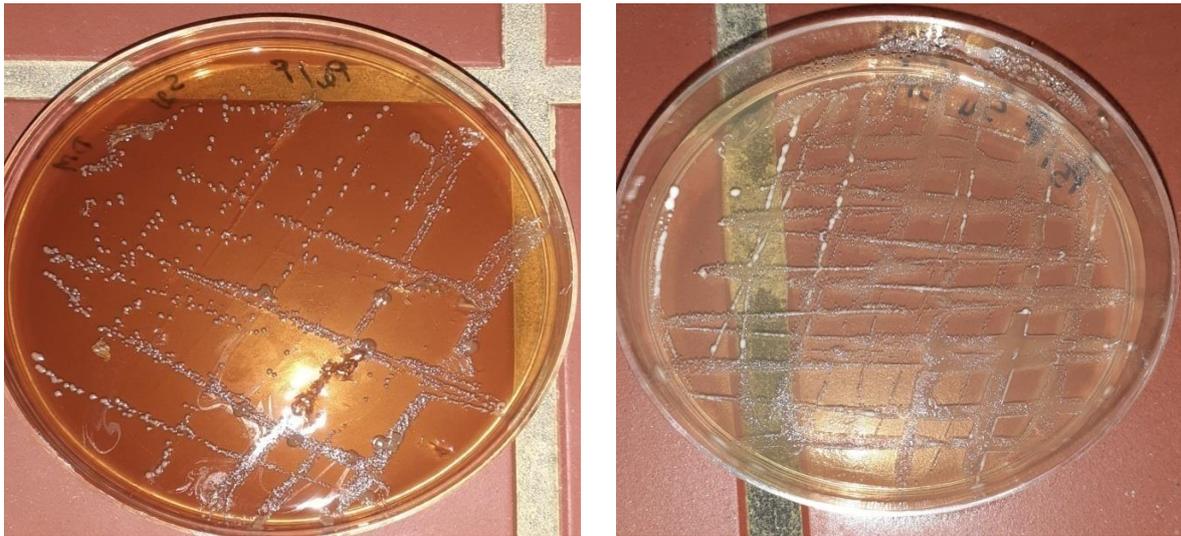


Figure 3 : Exemples d'aspect macroscopique des isolats sur gélose MRS

L'examen macroscopique sur gélose MRS montre des colonies arrondies d'une couleur blanchâtre. En anaérobiose après 48h d'incubation à 37°C sur gélose MRS les souches apparaissent sous forme de colonies blanches, lisses et rondes avec un diamètre de 2-3mm (Tabasco *et al.*, 2007).

III.2. Examen microscopique

La coloration de Gram de 30 isolats a révélé que l'ensemble des isolats étaient Gram positif, avec une forme dominante qui est la forme bacillaire (25 isolats sous forme bacillaire). Les cellules bactériennes étaient isolées ou déposées en diplo, en chaînette, en amas ou en palissade.



Figure 4 : Exemples d'observation microscopique des isolats.

IV- Recherche de la catalase

Les résultats du test de la catalase ont révélé que l'ensemble des isolats étaient catalase (-).

Au terme de ces résultats tout les isolats Gram (+) et catalase (-) sont considérés préalablement comme des BL.

Le test de la catalase a révélé que les 30 souches sont négatives à la réaction de la catalase. Selon Bergey's Manuel de la Systématique Bactérienne « les *Firmicutes* », les BL sont catalase négative (De Vos *et al.*, 2009).

En effet, selon Sutra *et al.*(1998), le milieu MRS est sélectif pour *Lactobacillus* mais quelques espèces de BL appartenant aux genres *Leuconostoc* et *Pediococcus* peuvent s'y développer. Par ailleurs, il ne permet pas la culture des autres BL comme *Carnobacterium*, à cause de la présence de l'acétate, et les bifidobactéries qui nécessitent l'addition de la cystéine au milieu de culture, dans notre étude 25 isolats sont bacillaires, des lactobacilles, les 5 autres sont sous forme de coque qui peuvent être des *Pediococcus*.

V- Evaluation des aptitudes probiotique *in vitro*

V.1. Etude d'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des souches des BL a été étudiée par la technique des spots vis-à-vis un groupe de germes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*, *Aspergillus sp*, appartiennent a la collection du laboratoire de recherche (LMA). L'effet inhibiteur des souches a été déterminé en mesurant les zones d'inhibition.

V.1.1. Revivification des souches pathogènes

V.1.1.1. Aspect microscopique et macroscopique

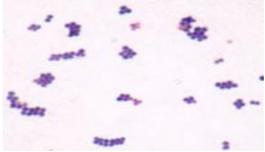
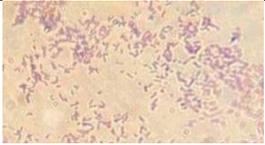
Dans ce travail, quatre souches pathogènes, ont été testées. Après avoir cultivé les souches de bactéries pathogènes (*S.aurieus* sur milieu chapman, *E.coli* sur EMB et les autres sur gélose nutritive), leur aspect macroscopique est présenté dans le tableau suivant.

Tableau XXIII: Résultats de l'observation macroscopique des souches pathogènes.

Souches pathogènes	Milieu de culture	Observation macroscopique	Forme de colonies
<i>E .coli</i>	EMB		Colonies de grandes tailles, de couleur bleu noir avec un aspect brillant vert métallisé.
<i>S. aureus</i>	Chapman		Colonies blanchâtres rondes de taille moyenne qui font virer le milieu en jaune.
<i>S. Typhi</i>	Gélose nutritive		Colonies rondes blanchâtres de taille moyenne.

Les résultats de la coloration de Gram et du test de la catalase sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXIV : Résultats de l'observation microscopique et du test de la catalase des souches pathogènes.

Souche pathogènes	Observation microscopique		Test catalase
<i>E. coli</i>		Bacille à Gram négatif, Bacille sous forme bâtonnet allongé.	Positif
<i>S. aureus</i>		Coque à Gram positif regroupé en amas (grappes de raisin).	Positif
<i>S. Typhi</i>		Bacille à Gram négatif sous forme de bâtonnet large et long.	Positif

V.1.2. Test de spots

Dans la présente étude, en premier lieu toutes les souches retenues (30 souches) ont été testées vis-à-vis d'*E. coli* mais seules 19 souches ont présentées une activité avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 26 mm (les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessus).

Tableau XXV : Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne vis-à-vis d'*E. coli*.

Code de la souche	<i>E. coli</i>
	Diamètre des zones d'inhibition
P1/F S1	7mm
P1/F S2	22 mm
P1/F S3	5mm
P1/F S5	4mm
P2/F S2	26mm
P2/F S4	7mm
P3/F S1	6mm
P3/F S3	13mm
P3/F S5	2mm
P4/F S1	5mm
P4/F S2	6mm
P4/F S3	2mm
P4/F S4	3mm
P4/F S5	6mm
P5/F S1	15mm
P5/F S2	22mm
P5/F S3	18mm
P5/F S5	15mm

Une des caractéristique intéressantes des BL est leur capacité de ralentir et d'inhiber l'activité et la croissance des bactéries pathogènes par la production de facteurs inhibiteurs (Dib et al., 2001) .

Annuk et al ,(2002) et **Fernandez et al (2002)** , dans leur étude ont démontré clairement que plusieurs espèces de lactobacilles, sont largement efficaces concernant l'inhibition des microorganismes pathogènes.

D'après ces résultats enregistrés ; les interactions ont montré que les souches isolées possèdent un effet inhibiteur à l'égard de *E.coli*.

En effet, selon **Lepargneur et Rousseau (2002)** , les lactobacilles sont connus antagonistes de nombreuses flores pathogènes et ceci en déployant plusieurs mécanismes dont la compétition nutritionnelle et stérique et la synthèse de diverses substances antimicrobiennes.

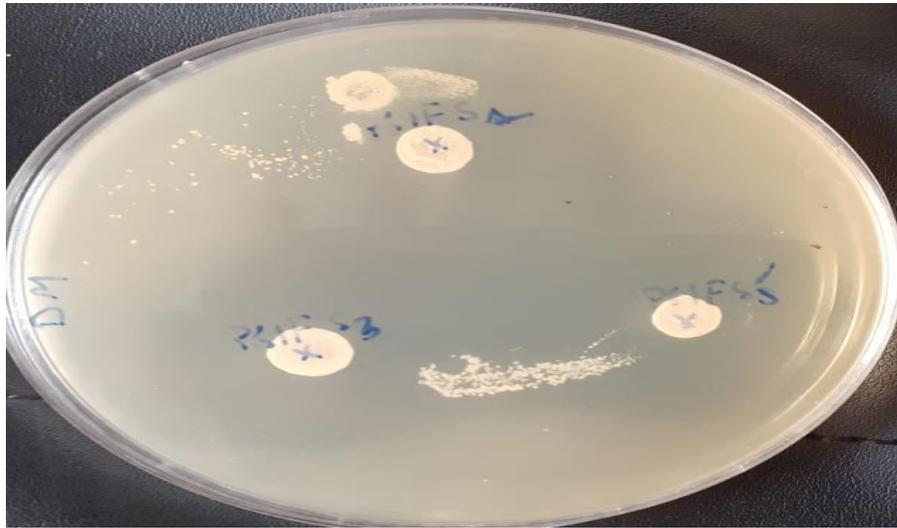


Figure 5 : Exemple de résultat d'activité antimicrobienne vis-à-vis d'*E. coli*

Sur les 19 souches testées seules 7 ont montré une activité inhibitrice importantes dépassant 13mm et atteignent 26mm, ces dernières ont été testées vis-à-vis de *S. aureus* les résultats sont résumé dans le tableau ci-dessus.

Tableau XXVI: Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de *S. aureus*.

Code de la souche	<i>S. aureus</i>
	Diamètre des zones d'inhibition
P1/F S2	3mm
P2/F S2	5mm
P3/F S3	9mm
P5/F S1	10mm
P5/F S2	16mm
P5/F S3	7mm
P5/F S5	16mm

Sept souches lactiques testées sont actives vis-à-vis de cette souche pathogène *S. aureus* qui est une bactérie à Gram positif et qui peut survivre pendant une longue période sur tout type de surface et tous type d'habitat. Les mains sont probablement le vecteur principal de transmission du *S. aureus* (Davido, 2010).



Figure 6 : Exemple de résultat d'activité antimicrobienne vis-à-vis de *S. aureus*

Sur les 7 souches testées, 5 souches ont présenté une meilleure activité, ces dernières ont été testées vis-à-vis de *Salmonella Typhi* et *Aspegillus sp*. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessus.

Ces dernières ont été retenues pour la suite des tests (type de fermentation, thermorésistance, résistance à acidité gastrique, résistance aux sels biliaires, résistances aux antibiotiques).

Tableau XXVII : Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de *Salmonella Typhi* et *Aspergillus sp.*

Code de la souche	Diamètre des zones d'inhibition	
	<i>Salmonella Typhi</i>	<i>Aspergillus sp</i>
P3/F S3	4mm	5mm
P5/F S1	18mm	13mm
P5/F S2	18mm	10mm
P5/F S3	Absence d'activité	2mm
P5/F S5	18mm	9mm

Hicks et Goepfert (1968) ont bien confirmés que l'acide lactique et l'acide acétique produits par les bactéries lactique participent a l'inhibition de 3 et les travaux de **Sakaridis et al.,(2012)** ont montré que les bactéries lactiques se caractérisent par une forte inhibition vis-à-vis *Salmonella sp.*

LAB produisant de nombreux métabolites antifongique tels que les acides organiques, les diacétyle, les antimycotique bioactifs, peptides, acides gras, acides carboxyliques, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, lactones, alcools, CO₂ et la reutérine qui ont la capacité d'inhiber la croissance fongique (**Crowley et al., 2013b**).

L'acide phenyl lactique et son dérivé l'acide 4-hydroxy phenyl lactique sont produits par des bactéries lactiques comme *Lb. plantarum*, *Lb. alimentarius*, *Lb. brevis*, *leu. mesenteroides*, etc (**Valerio et al., 2004**). Ils présentent une activité contre les champignons tels que affectant à la différenciation hyphal d'*Aspergillus*, *Penicillium* et autre (**Svanstrom et al., 2013**).

Engberg et al (2004) Donc il est permis de penser que le probiotique a agit sur le nombre de bactéries de la flore intestinale en la faisant diminuer durant le développement du poulet.



Figure 7 : Exemple de résultat d'activité antimicrobienne vis-à-vis de *S. Typhi*.

V.2. Type de fermentation

Les résultats de l'étude de type fermentaire sont mentionnés dans le tableau XXVIII. Les 5 souches testées sont toutes homofermentaires, aucune production de gaz dans les cloches n'a été enregistrée

Tableau XXVIII : Type de fermentation des souches testées.

Code de la souche	Type de fermentation	
	homofermentaire	hétérofermentaire
P3/F S3	+	-
P4/F S3	+	-
P5/F S1	+	-
P5/F S2	+	-
P5/F S5	+	-

Un des critères d'identification des espèces des BL est l'étude du type de fermentation. Certaines espèces de BL sont homofermentaires ne produisent que l'acide lactique, et d'autres hétérofermentaires produisant de l'acide acétique de l'acétaldéhyde, de l'éthanol et du dioxyde de carbone (CO₂) à côté de l'acide lactique (De Vos et al., 2009 ; Nanatani et Abe, 2009). Par ailleurs les espèces retrouvées dans notre étude se classent en espèces homofermentaires.

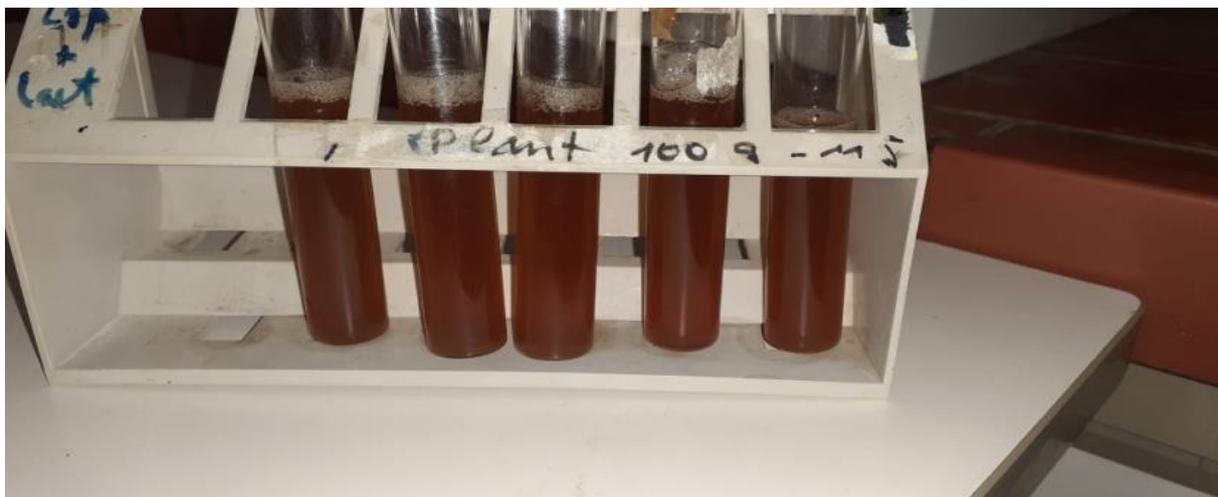
V.3. Thermorésistance

La thermorésistance est un caractère permettant de distinguer entre les souches pouvant tolérer une température de 60°C pendant 30min.

Le résultat positif se traduit par un trouble après incubation, toutes les souches testées ne présentent pas de trouble après incubation, donc les souches testées sont incapables de résister à ce traitement thermique.



a : Avant incubation



b : Après incubation

Figure 8 : Résultat de la thermorésistance de souches testées.

V.4. Résistances à l'acidité gastrique et aux sels biliaries

L'étude de la résistance au pH simulé gastro-intestinal et le test de la résistance aux sels biliaries sont effectués sur les cinq souches ayant montré une meilleure activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches testées, les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessus.

Les résultats obtenus ont montré que toutes les souches testées étaient résistantes au pH gastrique et aux sels biliaries, effectivement ces derniers ont montré une connaissance simultanée à celle du témoin.

Tableau XXIX : Résultats de la résistance à l'acidité gastrique et aux sels biliaries.

Code de la souche	Valeurs des pH				Les sels biliaries (0,3%)
	pH 2	pH 2,5	pH 3,5	pH 4	
P3/F S3	R	R	R	R	R
P4/F S3	R	R	R	R	R
P5/F S1	R	R	R	R	R
P5/F S2	R	R	R	R	R
P5/F S5	R	R	R	R	R

Le résultat de l'incubation après 24h des cultures testées ont révélé une croissance favorable pour l'ensemble des souches (figure 11).



a : Résultat après 24h d'incubation sur bouillon MRS



b : Témoin

Figure 9 : Exemple de résultat de résistance à l'acidité gastrique après 24h d'incubation sur bouillon MRS.

Les souches probiotiques, pour être efficaces, doivent parvenir vivantes au site de leur action, à savoir l'intestin et donc résister au cours de leur passage aux conditions gastrique.

Les souches isolées dans notre travail, ont montré que les 5 souches testées ont la capacité de tolérer les pH acide

Les lactobacilles sont naturellement bien adaptés à des pH acides (**Van de Guchte et al., 2002**) par leur production d'acide(s) organique(s) lors de la fermentation lactique. Les lactobacilles peuvent réagir au stress acide par trois mécanismes (**Lim et al., 2000 ; Lorca et al., 2000**) : en limitant l'entrée des acides dans leur cytoplasme, en alcalinisant le milieu intracellulaire grâce aux ATPases (**Poolman et al., 1991 ; Nanatani et Abe, 2011**) et en protégeant les macromolécules contre les dérivés chargés par les protéines chaperonnes dont la fonction est d'assister d'autre protéines en assurant un repliement spatial adéquat (**Lim et al., 2000 ; Lorca et al., 2002**).

Les mécanismes de résistance de lactobacilles aux sels biliaires sont de mieux en mieux connus (**Pfeiler et Klaenhammer, 2009**). Les lactobacilles sont capables de métaboliser les acides biliaires ce qui les protègent contre la bile. L'un des mécanismes de cette résistance ; c'est la déconjugaison des acides biliaires par les enzymes *biles salts hydrolase* (BSH). L'hydrolyse libère les glycines et/ou les taurines du noyau stéroïde ce qui a pour effet de diminuer la solubilité de la bile à pH bas et de réduire ses activité détergentes (**Begley et al., 2006 ; Hamon et al., 2011**).

Un autre mécanisme responsable de la résistance des lactobacilles aux sels biliaires est l'extrusion de la bile. Ce mécanisme est réalisé grâce aux systèmes *multidrug resistance* (MDR). Les MDR sont responsables de la résistance à de nombreux composés toxiques comme les antibiotiques, les solvants organiques, les détergents et les sels biliaires (**Sami et al., 1997 ; Whitehead et al., 2008 ; Pfeiler et Klaenhammer, 2009**).

VI- Evaluation de l'aspect de sécurité

VI.1. Activité hémolytique

L'étude de l'activité hémolytique a été étudiée sur gélose au sang frais. Ce milieu est utilisé pour la détection et la détermination des caractéristiques hémolytiques d'une souche bactérienne donnée. Les zones d'hémolyse se manifestent comme suit : β -hémolyse (zone claire autour des colonies), α -hémolyse (zones avec reflets verdâtres).

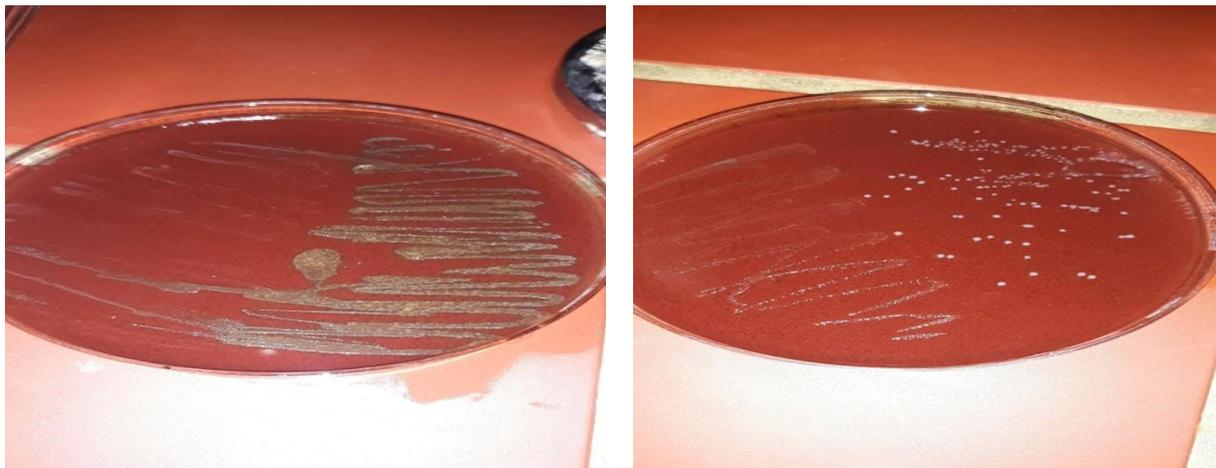
12 souches ont été testées pour leur pouvoir hémolytique (12 souches testées selon la disponibilité du milieu). Les résultats sont représentés dans le tableau XXX. L'une des souches cultivées sur gélose au sang parmi les 12 a présentée une activité hémolytique de type alpha après 24h d'incubation (Figure 10).

Tableau XXX : Résultat d'activité hémolytique des souches bactériennes testées.

le code de la souche	Type d'hémolyse	
	α -hémolyse	β -hémolyse
P1/F S1	-	-
P1/F S2	-	-
P2/F S1	-	-
P2/F S2	-	-
P3/F S3	-	-
P4/F S1	+	-
P4/F S3	-	-
P4/F S4	-	-
P5/F S1	-	-
P5/F S2	-	-
P5/F S3	-	-
P5/F S5	-	-

(-) : absence d'hémolyse. ; (+) : présence d'hémolyse.

La détermination de l'activité hémolytique est l'une des exigences de sûreté des souches probiotiques. Les microorganismes probiotiques doivent être dénués de toutes formes de pathogénicité (**FAO/OMS, 2002**). En effet, les probiotiques sont des organismes vivants et de ce fait, ils peuvent être responsables théoriquement d'effets secondaires comme des risques d'infection systémiques (**Gupta et al., 1995 ; Salminen et al., 1998**).



a : Activité α hémolytique de la souche P4/F S1 **b** : Absence d'activité hémolytique sur gélose au sang

Figure 10 : Résultats de l'activité hémolytique de la souche P4/F S1 (a) et exemple de croissance pour d'autres souches (b).

VI.2. Résistance aux antibiotiques

La sensibilité des souches bactériennes à une gamme d'antibiotiques a été évaluée par la méthode de diffusion en disques. La résistance ou non d'une souche a été déterminée par la mesure des zones d'inhibition autour des disques (**Charties *et al.*, 1998**). Les résultats sont mentionnés dans le tableau XXXI

La souche P4/F S3 n'avait aucune croissance sur gélose MRS après incubation, ce qui laisse supposer que la souche est très sensible aux différents antibiotiques (Ampicilline (10 μ g), Amoxicilline(20 μ g), Céfoxitine (30 μ g), Clindamycine (2 μ g), Triméthoprim-sulfaméthoxazole (25 μ g))

La souche P3/F S3 était résistante aux cinq antibiotiques testés. Les trois souches P5/F S1, P5/F S2 et P5/F S5 étaient résistantes à quelques antibiotiques et sensible à d'autres.

Il faut noter que cette résistance et sensibilité trouvée dans cette étude, peut être liée à la concentration de chaque antibiotique d'où la nécessité de tester plusieurs concentrations pour confirmer les résultats.

Tableau XXXI : Résultat de résistance des souches aux antibiotiques.

Nom d'antibiotique et sa concertation	Code de la souche (+ Le diamètre des zones d'inhibition)				
	P3/F S3	P4/F S3	P5/F S1	P5/F S2	P5/F S5
Ampicilline (10µg)	R 0mm	Pas de croissance	S 4mm	R 7mm	S 8mm
Amoxicilline(20µg)	R 0mm	Pas de croissance	R 10mm	R 11mm	R 11mm
Céfoxitine (30µg)	R 0mm	Pas de croissance	R 0mm	R 0mm	R 0mm
Clindamycine (2µg)	R 0mm	Pas de croissance	R 1mm	S 16mm	S 15mm
Trimethoprim-sulfamethoxazole (25µg)	R 0mm	Pas de croissance	R 8mm	Int 12mm	Int 10mm

S : souche sensible ; R : souche résistante ; int : intermédiaire ; mm : millimètre

Un autre aspect important de la sécurité sanitaire des probiotiques est le profil de la résistance aux antibiotiques. En effet, comme pour toutes les bactéries ; les souches probiotiques ont montré une résistance aux antimicrobiens (**Salminen et al., 1998**). Dans ce contexte, il est recommandé d'étudier le profil de résistance naturelle et acquise aux médicaments antimicrobiens est d'une grande importance. La résistance acquise constitue un grand risque de transmission de gènes de la résistance à des bactéries intestinales pathogènes et commensales (**Ishibashi et Yamazaki, 2001**).

Mikelsaar et al.,(2004), ont reporté que des souches de Lactobacille étudiées ont présenté une résistance à 100% à la Céfoxitine, ce qui soutien nos résultats.

Les lactobacilles sont généralement sensibles aux bêta-lactamines ; mais ils sont naturellement résistant aux céphalosporines de deuxième génération comme la céfoxitine (**Danielsen et Wind, 2003**) dont le mécanisme de résistance n'est pas complètement élucidé, mais l'imperméabilité de la membrane cellulaire a été suggérée (**Elkins et Mullis, 2004 ; Ammor et al., 2007**).

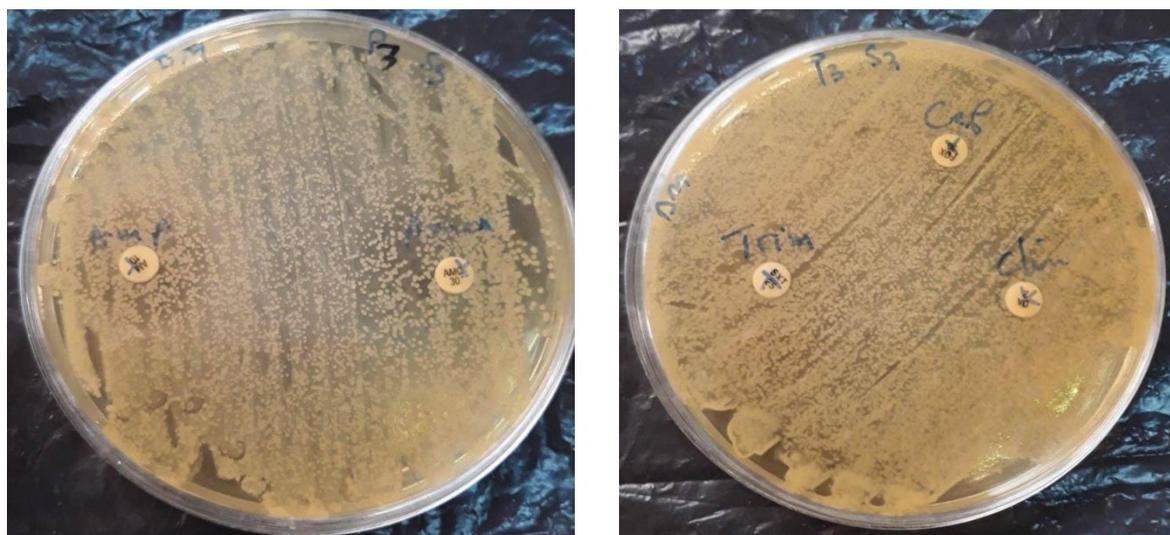


Figure 11 : Exemple de résistance de la souche P3/F S3 aux différents antibiotiques.

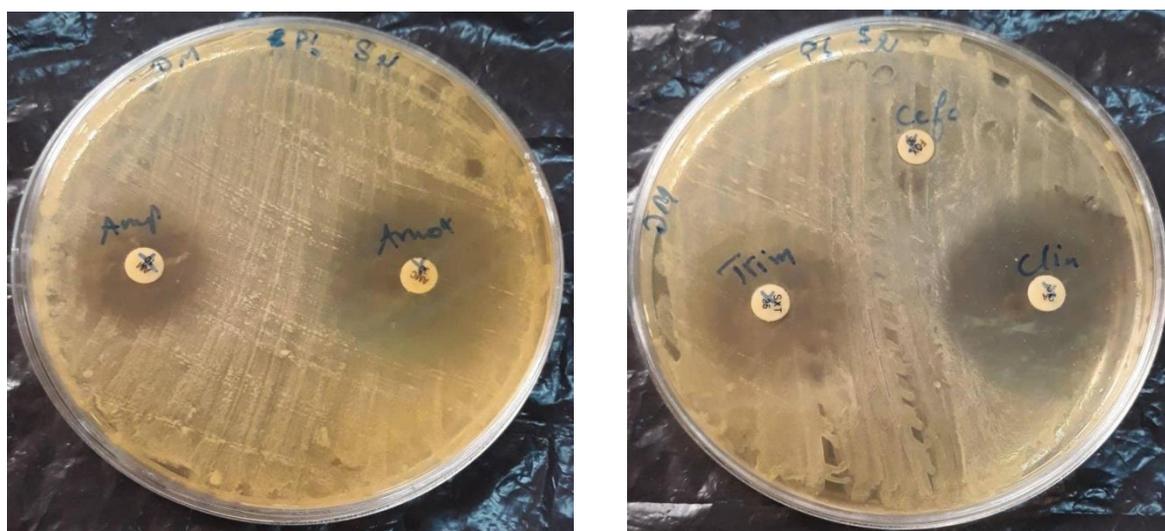


Figure 12 : Exemple de sensibilité de la souche P5/F S2 à quelques antibiotiques.

L'interdiction de l'usage des antibiotiques comme facteurs de croissance dans l'élevage avicole, incite les chercheurs à l'échelle mondiale de trouver des alternatives pour maintenir les performances zootechniques de l'élevage. Parmi les alternatives, les bactéries probiotiques qui ont prouvé leur efficacité sur la santé animale, ainsi que leur efficacité sur les performances zootechniques.

L'objectif principal de cette étude est d'isoler des souches de bactéries lactiques à potentiel probiotique, à partir de selles du poulet de chair. Au préalable, une enquête sur les conditions d'élevage du poulet de chair a été réalisée au près de 15 éleveurs celle-ci a révélée que les pathologies les plus fréquentes en élevage de poulets de chair sont d'origine bactérienne surtout au cours de la saison d'été et d'hiver, L'usage des antibiotiques et le suivie d'un programme de vaccination est donc important, un apport abondant et continu des protéines est nécessaire à la croissance du poulet de chair, en effet, l'enquête a montré des taux de mortalité dans les normes.

L'isolement à partir de 8 échantillons de selles de poulet de chair récoltés de deux régions différentes (Ighil l'bordj, Souk el thnin) de la wilaya de Bejaïa, a permis d'obtenir 30 isolats révélés tous Gram (+) et catalase (-). Ces derniers, sont considérés préalablement comme des bactéries lactiques.

Les résultats du test de spots des 30 souches de bactéries lactiques retenues vis-à-vis *E coli* ont montrées que seules 19 souches sont inhibitrices, dont 7 ont montré des activités inhibitrices importantes allant de 13mm jusqu'au 26mm. Ces dernières ont été testées vis-à-vis *S. aureus* les résultats obtenus nous ont permis de sélectionner 5 souches ayant des activités inhibitrices dépassant 7mm. Ces dernières à leur tour ont été testées vis-à-vis *S. Typhi* et *A. niger* les résultats obtenus ont montré que l'ensemble des souches étaient douées d'activité antimicrobienne sauf pour la souche P5/F S3 qui n'a présenté aucune zone d'inhibition vis-à-vis *S. Typhi*.

Ces cinq souches retenues sont testées pour la résistance à l'acidité gastrique, aux sels biliaires, la thermorésistance, le type de fermentation, ainsi que la résistance aux antibiotiques. Les résultats de la résistance à l'acidité gastrique et aux sels biliaires ont montré que l'ensemble des souches sont résistantes, le test de thermorésistance et le type de fermentation a révélé que toutes les souches sont thermolabiles et homofermentaires.

Les résultats de l'antibiogramme vis-à-vis 5 antibiotiques (Ampicilline (10µg), Amoxicilline(20µg), Céfoxitine (30µg),Clindamycine (2µg), Trimethoprim-sulfamethoxazole (25µg)) sélectionnés préalablement selon l'enquête et a montré que les souches sont sensibles à certain antibiotiques et résistantes à d'autres, Cependant P3/FS3 a montré une résistance vis-à-vis de l'ensemble des antibiotiques testés.

Le résultat du test de l'activité hémolytique pour les 12 souches testées a montré que seule une souche est dotée d'une activité α -hémolyse (P4/FS1).

L'évaluation des aptitudes probiotiques nous a amené donc à une sélection de quatre souches de bactéries lactiques pouvant être utilisés comme probiotiques dans les élevages de poulets de chair

En effet, les souches de bactéries lactiques isolées chez le poulet, pourraient être de bons candidats probiotiques par considération qu'ils sont des composants normaux bénéfiques du microbiote intestinal de volailles, ainsi qu'ils sont reconnues comme germes non pathogènes et répondent aux critères pour leurs usage comme additifs dans l'alimentation de volaille.

Néanmoins, cette études reste préliminaire et nécessite d'être approfondie il serait intéressant de confirmer les résultats obtenus et d'étudier tout les critères probiotiques des souches sélectionnées. Une identification biochimique et génétique de ces dernières est nécessaire. Cependant l'application des ces souches comme probiotiques *in vivo* reste une perspective intéressante.



A

Ahmad I., (2006). « Effect of probiotics on broiler performance ». *International Journal of Poultry Science* 5(6), p593-597.

Almeida Paz IC de L., de Lima Almeida IC., de La Vega LT., Milbradt EL., Borges MR., Chaves GHC., (2019). Productivity and Well-Being of Broiler Chickens Supplemented With Probiotic. *J Appl Poult Res.*;28:930-42.

Ammor MS., Flórez AB., van Hoek AHAM., de los Reyes-Gavilán CG., Aarts HJM., Margolles A, Mayo B (2008). Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J. Mol. Microbio. Biotechnol.* 14: 6–15.

Andereatti 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 :107-102.

Annuk H., Shchepetova J., Kullisaar T., Songisepp E., Zilmer M. et Mikelsaar M., (2002): Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J. Appl. Microbiol.* 94, 403-412.

Audisio M. C., G Oliver et al. (2000). « Protective effect of *Enterococcus faecium* J96, potential probiotic strain, on chicks infected with *Salmonella pullorum* ». *Journal of Food Protection* 63(10) : 1333-1337.



B

Badis A., Guetarni D., Boudjemaa M.B., Henni D.E., Kihal M., (2004). Identification and technological properties of lactic bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology.* 21 : 579 – 588.

Begely M., Hill C, Gahan CGM., (2006). Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. *Apl. Env. Microbiol.* 72(3):1729-1738.

Bernardeau M., Vernoux JP., Gueguen M., Smith DG, Corona-Barrera E., 2009. Antagonistic activities of two *Lactobacillus* strains against *Brachyspira*. *Vet Microbiol.* 138(1-2) ; 184-190.

Bernardeau M., Gueguen M & Vernoux JP., (2006) Benefical lactobacilli in food and feed : long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety of enteropathogen. *FEMS Microbiol Rev.* 2006 jul ; 30(4) :487-513.

Blajman et al.,(2015). Probióticos en pollos parrilleros: Una estrategia para los modelos productivos intensivos. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. Elsevier España, S.L.U.; 47:360-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.08.002>.



Chafia S., (2006). Effet de l'addition des probiotiques dans le régime alimentaire sur les performances zootechnique du poulet de chair, mémoire de magister en science vétérinaires. Université El-hadj lakhdar – Batna.

Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK, (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J. Food. Prot.* 61 : 1636 - 1643

Crowley S., Bottacini F., Mahony J., van Sinderen D. (2013). Complete Genome Sequence of *Lactobacillus plantarum* Strain 16, a Broad-Spectrum Antifungal-Producing Lactic Acid Bacterium. Department of Microbiology, doi: 10.1128/genomeA.00533-13

Crowley S., Mahony J., & van Sinderen., (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, P33(2), 93–109

Czaplewski L., Bax R., Clokie M., Dawson M., Fairhead H., Fischetti VA., (2016). Alternatives to antibiotics-a pipeline portfolio review. *Lancet Infect Dis.* 16:239-51.



Danielsen M., Wind A., (2003). Susceptibility of *Lactobacillus spp.* To antimicrobial agents. *Inter. J. Food. Microbiol.* 82(1):1-11.

DAVIDO B., (2010). Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées Communautaires à staphylocoque doré, Denis Diderot. Doctorat: 61

Dehaumont P., Moulin G., (2005) Evolution du marché des médicaments vétérinaires et de leur encadrement réglementaire : conséquences sur leur disponibilité. - Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 158, n°2, 125-136.

Denis O. Krause, James D. House., Nyachoti, C. M., (2004). Alternatives to antibiotics in swine diets : a molecular approach. Departement of Animal Science. University of Manitoba. Canada.

De Oliveira GH., Berchieri A et al., (2000). « Prevention of *Salmonella* infection by contact using intestinal flora of adult birds and/or a mixture of organic acids ». Brazilian Journal of Microbiology 31(2) : 116-120.

De Roissad H., Luquet FM., (1994). Bactéries lactiques .Lorica Uriage.1, 25-116.

De Vos P., Garrity GM., Jones D., Krieg NR., Ludwig W., Rainey FA, Schleifer KH., Whitmanet WB (2009). Genus *Lactobacillus, Bacillus and Listeria*. In : « Bergey's manual of systematic bacteriology - The Firmicutes » Vol 3. Springer éd., New York.
pp.19-511.

DIB H. E. H., Mrad S., Ayoub S., Choueiry R. J., Moussa L., Bitar G., (2012). Identification et évaluation de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels. Lebanese Science Journal, 13, 43-58.

Didier V., (2001). Maladies des volailles Edition France Agricole, p : 228-339.

Dunne C, L. O'Mahony et al., (2001). *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin : correlation with in vivo findings. American Journal of Clinical Nutrition 73(2) : 386s-392s.



Elkins CA., Mullis LB., (2004). Bile-mediated aminoglycoside sensibility in *Lactobacillus* species likely results from increased membrane permeability attributable to cholic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 :7200–7209.

Engberg RM., Hedemann M., Steinfeldt S & Jensen B., (2004) Influence of Whole Wheat and Xylanase on Broiler Performance and Microbial Composition and Activity in the Digestive Tract. *Poultry Science* 83.



FAO/ WHO (2002). Joint working group report on guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada

FAO/ WHO (2004). Health and Nutritional Properties of Probiotics in food including powder Milk with Live Lactic acid Bacteria.

Farner D.S., (1942). « The hydrogen ion concentration in avian digestive tracts ». Poultry Science 21 : 445-450.

Fernandez M. F., Boris S. et Barbes C., (2002). Probiotic properties of human lactobacilli strains to be in the gastrointestinal tract. J. Appl. Microbiol. 94, 449-455.

Fleming HP., Erchells JL., Casilow RN., (1975). Microbiol inhibition of isolate *Pediococcus* from cucumber bunc. *Appl.Environ.Microbiol.*30, 1040 – 1042.



Gabriel I., Mallet S., Lessire M., (2003). La microflore digestive : une composante oubliée de la nutrition des volailles. Cinquième journées de la recherche avicole. Tours

Gabriel I., Mallet S., Leconte M., Fort G., Naciri M., (2003). Effects of whole wheat feeding on the developemnt of coccidial infection in broiler chickens. *Poult. Sci.*, 82, 1668-1676.

Gabriel I., Mallet S., Sibille P., (2005). La microflore digestive des volailles : facteurs de variation et conséquence pour l’animal. *INRA. Prod. Anim.*, 18(5) : 309-322.

Gaggia F., P Mattarelli et al. « Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production ». *International Journal of Food Microbiology* In Press, Corrected Proof.

Gagnon M., (2007). Rôle des probiotiques lors l’infection entériques d’origine bactérienne et virale : analyses *in vitro* et étude *in vivo* chez des modèles murins. Département des sciences des aliments et de nutrition Québec. Université Laval. Ph.D : 155.

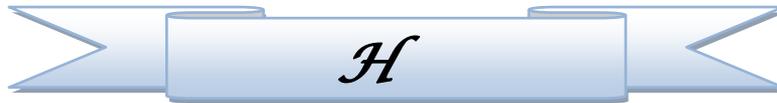
Garvie E.I., Sneath P.H.A., Mair N.S., Share K.G., (1986). Genus *Pediococcus*. *In-Bergey’s manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore.*Vol.2.p 1075-1079.

Goepfert J.M., R, Hicks., (1968). Effect of Volatile Fauy Acids on *Salmonella Typhimurium*, *Journa of bacteriology. American Society of Microbiology* p 956 – 958.

Gueimonde M., Salmimen S., (2006). « New methods for selecting and evaluating probiotics ». *Digestive and Liver Disease* (38) : S242-S247.

Guiraud J.P., (1998). Technique d’analyse microbiologique *In* : « Microbiologie alimentaire ». Dunod éd., Paris. France. p171-246.

Gupta P.K., Mital B.K., Gupta R.S., (1995). Antibiotic sensitivity pattern of various *Lactobacillus acidophilus* strains. *Indian. J. Exp. Biol.* 33:620–631.



Hamon E., Horvatovich P., Izquierdo E., Bringel F., Marchioni E., Aoude-Werner D., Ennahar S., (2011). Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. *BMC. Microbiol.* 11(63): 191-201.

Higgins S. E., Higgins J. P., (2008). « Evaluation of a *lactobacillus* Based Probiotics Culture for the Reduction of *Salmonella enteritidis* in Neonatal Broiler Chicks ». *Poultry Science* 87(1) : 27-31.

HINTON et MEAD., (1991). Les principales maladies de la poule. <https://agronomie.info/fr/articles/>.

Holzappel W.H., and Schillinger U., (2002) introduction to pre- and probiotics. *Food Res Int.* 35 : 109-116.

Hyrominus B., Le Marrec P., Hadj Sassi A., Deschamps A., (2000). Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *Int.J.Food Microbiol.* 61 : 193 – 197



Ishibashi N., Yamazaki S., (2001). Probiotics and safety. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(suppl):465-470.



Jin L., Abdulla N., et Jalaludin S., (2000). Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with *Lactobacillus* cultures. *Poult. Sci.* 79 : 886-891.

Joseph Clovis Dongmo., (2009). Université de Yaoundé I – DESS



Κ

Kalavathy R., Abdullah N., Jalaludin S., Wong M.C., Ho Y.W., (2006). Effects of *Lactobacillus* feed supplementation on cholesterol, fat content and fatty acid composition of the liver, muscle and carcass of boiler chickens. *Anim. Res.* 55 : 77-82.

KERMIA S., OUACHEM A., (2020). Elevage de poulet de chair dans la région de Bouira « Enquête et suivi ». /UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/20.

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

Klaenhammer T.R., M. J. Kullen M. J., (1999). « selection and design of probiotics ». *International Journal of Food Microbiology* 50(1-2) : 45-57.

Kouamé S., Alexis K., (2009). Institut national Félix Houphouët – boigny de Yamoussoukro (cote d’ivoire)- Ingénieur des techniques agricoles : option agro-industrie.



Λ

La Ragiona R.M., Narbad A., Gasson M.J., Woodward M.J., (2004) *In vivo* characterization of *Lactobacillus johnsonii* FI9785 for use as a defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry. *Lett Appl Microbiol* 38 : 197-205.

Larbier M., Leclercq B., (1992). Nutrition et alimentation des volailles. Edition INRA – Paris (France).

LATGE J.P., (1999). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis, *Clinical Microbiology Reviews*, 12, p 310-311.

Lazaro R., Gracia M., Aranibar M.J., Mateos G.G., (2003). Effect of enzyme addition to wheat – barley – and rye – based diets on nutrient digestibility and performance of laying hens. *Br Poult Sci* . 2003 May ; 44(2) : 256-65.

Lee S., Lillehoj H.S., Park D.W., Hong Y.H., Lin J.J., (2007). Effect of *Pediococcus* and *Saccharomyces* – based probiotic (MitoMax) on coccidiosis in boiler chickens. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 30(4) : 261-8.

Lepargneur J., Rousseau V., (2002). Rôle protecteur de la flore de Doderleïn. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 31:485-494.

Lim E.M., Ehrlich S.D., Maguin E., (2000). Identification of stress-inducible proteins in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Electrophoresis*. 21 :2557-2561.

Lorca G.L., Font de Valdez G., Ljungh A., (2002). Characterization of the protein-synthesis Dependent adaptive acid tolerance response in *Lactobacillus acidophilus*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 4: 525-532.



Machado M.L., (2019). 80th YEAR OF NUTRITION HISTORY IN BRAZIL Public policies of food and nutrition in Brazil : From Lula to Temer Políticas públicas de alimentação e nutrição do Brasil : de Lula a Temer.;1-13.

Mantonavi A., Maranghi F., Purificato I., Marci A., (2006). Assessment of feed additives and contaminants : an essential component of food safety. *Ann Ist Super Sanita.* 42(4) : 427-32.

Maragkoudakis P.A., Zoumpopoulou G., Maris C., Kalantzopoulos G., Pot B., Tsakalidou E., (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Int. Dairy. J.*16 : 189 – 199.

Merck., (2010). The Merck veterinary manual Dictionnaire vétérinaire. 10^oed. *Merck and co. London, UK.*

MEULEMANS., (1988). Les principales maladies de la poule. <https://agronomie.info/fr/articles/>.

Mikelsaar M., Zilmer M., (2004). *Lactococcus fermentum* ME-3-an antimicrobial and antioxidative probiotic. *Micro. Ecol. Health Dis* 1 : 1-27.

Mountzouris K.C., Tsirtsikos P., Kalamara E., Nitsch S., Schatzmayr G., Fegeros K., (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poult Sci.* 86(2) : 309-17



Namula Z., et al., (2020) The role of intestinal microbiota in chicken health , intestinal physiology and immunity. *J Anim Plant Sci.*;31:342-51.

Nanatani K., Abe K., (2011). Energy generation coupled with decarboxylation reaction in Lactic acid bacteria. In « *Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria: Current Progress in Advanced Research* » Sonomoto and Yokota/ Caister Academic Press éd., Norfolk. United kingdom. p67-88.



O'Mahony A., O'Sullivan., T., Walsh Y., Vaughan A., Maher M., Fitzgerald G.F., Van Sinderden D., (2000). Characterisation of antimicrobial producing lactic acid bacteria from malted barley. *J. Inst. Brew.* 106, 403-410.

Ouwehand A. C., S. Salminen et al., (2002). « Probiotics : an overview of benefecial effects ». *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 82(1-4) : 279-289.



Paco R.S., Leme L.L., Bottino J.A., Ferreira A.J.P., (2003). Identification of *lactobacillus spp* from boiler litter i brazil. *Braz J. Microbiol.* 34 : 236-237.

Pelicano E.R., De Souzaa P.A., De Souzaa., H.B.A., Leonel F.R., Zeola N.M.B.L., Boiago M.M., (2004). Productive traits of broiler chickens feed diets containing different growth promoters. *Rev. Bras. Cienc* 6(3) : 177-182.

Pfeiler E.A., Klaenhammer T.R., (2009). Role of transporter proteins in bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*75: 6013-6016.



RUSSEL et ALEXANDRE., (1983). Les principales maladies de la poule. <https://agronomie.info/fr/articles/>.



Saarela M., Mogensen G et al., (2000). « Probiotics bacteria : safety , functional and technological properties ». *Journal of Biotechnology* 84(3) : 197-215.

Saiki R.K., Gelfand D.O.H., Stoffel S., Scharf S.J., Higuchi R., Horn G.T., Mullis K.B., Erlich H.A., (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 239: 487-491.

Salminen S., von Wright A., Morelli L., Marteau P., Brassart D., de Vos W.M., Fonden R., Saxelin M., Collins K., Mogensen G., Birkeland S.E., Mattila-Sandholm T., (1998). Demonstration of safety of probiotics - A review. *Int. J. Food. Microbiol.* 44(1-2): 93-106.

Sami M., Yamashita H., Hirono T., Kadokura H., Kitamoto K., Yoda K., Yamasaki M., (1997). Hop-resistance of *Lactobacillus brevis* contains a novel plasmid harboring a multidrug resistance-like gene. *J. Ferment. Bioeng.* 84: 1-6.

Samli H.E., Senkoylu N., Koc F., Kante M., Agma A., (2007). Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. *Arch Anim Nutr.* 61(1) : 42-9.

Sanchez D., Ganfornina M.D., Torres-Schumann S., Speese S.D., Lora J.M., Bastiani M.J., (2000). « Characterization of two novel lipocalins expressed in the Drosophila embryonic nervous system ». *Int. J. Dev. Biol.* 44(4): 349—359.

SCHMIDT et al., 1973. Les principales maladies de la poule. <https://agronomie.info/fr/articles/>.

Schrezenmeir J., De Vrese M., (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73(2) : 361-364.

Shaedler R.W., (1973). Relationship between the host and its intestinal microflora. *Proceedings of the nutrition society*, 32, p41-47.

Simon O., Jadamus A et al., (2001). « probiotics feed additives – effectiveness and expected modes of action ». *Journal of Animal and Feed Sciences* 10 : 51-67.

Simon O., Jadamus A., Vahjen W., (2001) Probiotic feed additives - Effectiveness and expected modes of action. *J Anim Feed Sci.*;10:51-67.

Simon O., (2005). Micro-organisms as Feed Additives – Probiotics. *Advances in Pork Production* Volume 16, p161.

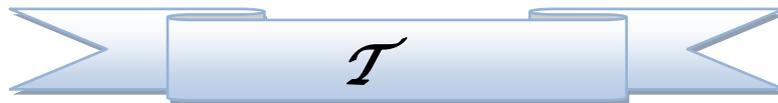
Smith H.W., (1965). Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *J. Pathol. Bacteriol.*, 89, 95-122.

Smith J.C., Soares J.H., (1984). Minerals. In: *The germ-free animal in biomedical research.* (Eds) M.E. Coates, B. Gustafsson. *Laboratory Animals handbooks*, London, UK, 275-284.

Snel J.H., Harmssen J.M., Williams B.A., (2002). Dietary strategies to influence the gastrointestinal microflora of young animals, and its potential to improve intestinal health. *Nutr. And Health of the Gastro. Tract.* 10 : 39-69.

Suryadi U., (2018) Probiotics based on Local Microorganism as a substitute of Antibiotic Growth Promotor (AGP) on Broiler productivity. IOP Conf Ser Earth Environ Sci.;207.

Sutra L., Federighi M., Jouve J.L., (1998). Bactéries lactiques. In: « *Manuel de bactériologie alimentaire* ». Polytechnica éd., Paris. France. p 235-260.



Tabasco R., Paarup T., Janer C., Pelaez C., Requena T., (2007). Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, *L. paracasei* subsp *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. *International Dairy Journal.* 17 : 1107 – 11114.

Tannock G. W., (1997). « Probiotic properties of lactic – acid bacteria : Plenty of scope for fundamental R&D ». *Trends in Biotechnology* 15(7) : 270-274.

Tesseraud S., Temim S., (1999). « Projet de développement de l'aviculture au Zaïre. Matières premières pour l'alimentation des volailles au Shaba ».p129

Torres-Rodriguez A., Donoghue A.M., Donoghue D.J., Barton J.T., Tellez G., Hargis B.M., (2007). Performance and condemnation rate analysis of commercial turkey flocks treated with *Lactobacillus* spp.-based probiotics. *Poult Sci.* 86(3) : 444-6

TOURNUT.,(1967). Les principales maladies de la poule. <https://agronomie.info/fr/articles/>.



Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A., (2004). Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria : an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS Microbiology letters* 233, 289-295.

Van de Guchte M., Serror P., Chervaux C., Smokvina T., Ehrlich SD., Maguin E., (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. *Ant. Van. Lee.* 82: 187-216.

Van Immerseel F., De Buck J., Boye F., Pasmans F., Bertrand S., Collard J.M., Saegerman C., Hooyberghs J., Haesebrouck F., Ducatelle R., (2005). Salmonella dans la viande de volaille et dans les œufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. *Ann. Méd. Vét.*, 149 : 34-48.

Van Immerseel F., De Buc J., Boyen F., Pasmans F., Bertrand S., Haesebrouck F., Ducatelle R., (2003). Stratégies nutritionnelles pour réduire les agents pathogènes chez la volaille. Cinquième journées de la recherche avicole. Tours

Van Immerseel F., Cauwter K., Devriese L.A., Haesebrouck F., and Ducatelle R., (2002). Feed additives to control *Salmonella* in poultry. *World's Poultry Science Journal.*, 58 : 501-51.

Van T.T.H., Yidana Z., Smooker P.M., Coloe P.J., (2020) Antibiotic use in food animals worldwide , with a focus on Africa: Pluses and minuses. *J Glob Antimicrob Resist* [Internet]. Taibah University; 2020;20:170-7. Available from:<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.031>.

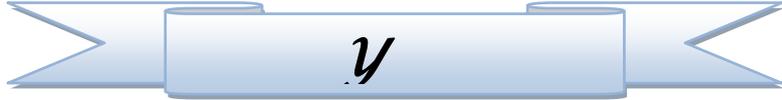
VINDEVOGEL., (1992). Les principales maladies de la poule. <https://agronomie.info/fr/articles/>.

Vittorio S.A., Mauro F., Carla B., Giovanna D.D., Giovanna S., Cheveau E., (2005). « Effet de l'addition de *Pediococcus acidilactici* dans la ration de poulet de chair sur les performance zootechnique et la microflore intestinale ». In : Proceeding de 6^{ème} journée de la recherche avicole, st Malo (FRA), p 208-211.



Whitehead K., Versalovic J.3., Roos S, Britton RA., (2008). Genomic and genetic Characterization of the bile stress response of probiotic *Lactobacillus reuteri* ATCC55730. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 1812-1819.

Wielen P.W., Biesterveld S., Notermans H., Hofstra B.A., (2000). Role of volatile fatty acids in development of the caecal microflora in broilerr chickens during growth. *App. Environ. Microbio.* 66 : 2536-2540.



Y

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

YVORE., (1992). Les principales maladies de la poule. <https://agronomie.info/fr/articles/>.



Z

Zacconi C., Svolari, Fraioli G.D., Sarra P.G., (1999). Colonisation of chickens intestinal tract by *Lactobacillus salivarius* A23 strain. *Annali di Microbiologia and Enzimologia.*, 49 : 103-115.

Site web

www.oef-poule-poussin.com

Annexe I : le matériel utilisé

Le matériel biologique :

- Bactéries lactiques, isolées préalablement des selles de poulets.
- Bactéries pathogènes (collection de laboratoire de recherche de l'université de Bejaia).

Appareillage :

Autoclave, bain marie, four Pasteur, étuve, microscope optique, frigo, centrifugeuse, spectrophotomètre.

Milieus de culture utilisés :

- **Gélose MRS (Man Rogosa Sharp):** utilisée pour la culture des bactéries lactiques.
- **Bouillon MRS :** utilisé pour l'enrichissement des bactéries lactiques ainsi que le repiquage des ces bactéries.
- **Bouillon nutritif :** utilisé pour le repiquage des bactéries pathogènes.
- **Gélose nutritive :** utilisée pour les bactéries pathogènes dans le test d'activité antimicrobienne (test de spots).
- **Gélose à sang cuit :** utilisée pour l'activité hémolytique.

Outils de la microbiologie :

Bec benzène, boîtes de Petri, tubes à essai, tubes à centrifugation, pipette Pasteur, écouvillon, lame, eppendorfs.

Produits chimiques et réactifs :

Violet de Gentiane, fushine, lugol, alcool, eau distillée, huile à immersion, H₂O₂, glycérol.

Annexe II : Composition de milieux de culture

Milieu MRS (g/l)

Peptone	10g
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Glucose	20g
Tween 80	1,08ml
Phosphate dipotassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0,2g
Sulfate de manganèse	0,05g
Ph 6,4 +/- 0,2	

Nb : pour la gélose on ajoute 15g d'agar

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

Gélose Nutritive (g/l)

Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar	15g
pH 7,4 +/- 0,2	

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

Bouillon Nutritif (g/l)

Gélatine peptone	5g
Extrait de viande	3g
Ph 6,8 +/- 0,2	

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

Annexe III : Questionnaire distribué lors de l'enquête

Dans le cadre d'une étude de Projet de Fin d'Etude, nous souhaitons effectuer une enquête sur les pathologies les plus rencontrées en élevage de poulet de chair dans La Wilaya de Bejaïa.

1. Région d'étude ?

2. Quelle sont les pathologies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair?

Maladies bactérienne Maladies Virales Maladies parasitaires

3. Durant quelle saison constatez-vous l'apparition de ces pathologies ?

Hiver Printemps Eté Automne

4. Quel est le type de traitement utilisé ?

Curatif Préventif

5. Quel est le type d'alimentation que vous utilisez ?

Industrielle Artisanale

6. Quelle est la composition d'alimentations industrielles que vous utilisez ?

7. Est-ce que vous respectez les 3 phases : Démarrage, croissance, finition ?

Oui Non

8. Quelle est la durée d'élevage ?

0-45j 45-55j 55-60j

9. Quel est votre taux de mortalité ? (Un seul éleveur, Aokas)

10. Utilisez-vous des antibiotiques ?

Oui Non

11. Quels sont les antibiotiques que vous utilisez fréquemment ?

12. Quel est votre programme de vaccination ?

13. Connaissez vous les probiotiques ?

Oui Non

14. Êtes-vous intéressés par cette alternative ?

Oui Non

Annexe IV : Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée par la technique suivante :

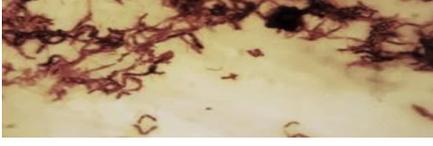
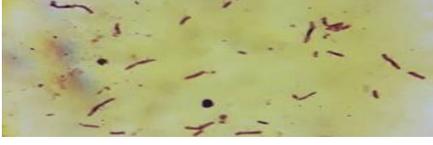
- La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette Pasteur stérile) puis on étale sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame.
- La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytotologique, et les faire adhérer à la lame).
- La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage avec de l'eau distillée, le Lugol est ajouté pendant 30 secondes (le Lugol est une solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium).
- La quatrième étape c'est la décoloration à l'alcool, verser goutte à goutte puis rincer à l'eau distillée (l'alcool ne traverse que la paroi de certaines bactéries « les Gram-» et décolore leur cytoplasme).
- La dernière étape nécessite quelques gouttes de la fuchsine de Ziehl qui sont versées sur la lame pendant une minute, puis la lame est lavée à l'eau distillée.
- Sécher la lame et mettre une goutte d'huile d'immersion puis passer à l'observation microscopique au grossissement X100.

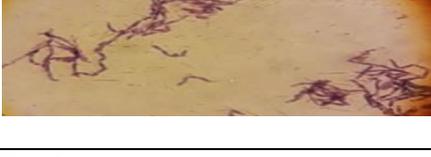
Annexe V : Aspect des colonies après purification

Code de la souche	Aspect des colonies
P1/F S1	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P1/F S2	- Grosse colonies arrondies blanchâtre
P1/F S3	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P1/F S4	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P1/F S5	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P2/F S1	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P2/F S2	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P2/F S3	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P2/F S4	- Grosses colonies arrondies blanchâtre
P2/F S5	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P3/F S1	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P3/F S2	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P3/F S3	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P3/F S4	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P3/F S5	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P4/F S1	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P4/F S2	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P4/F S3	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P4/F S4	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P4/F S5	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P5/F S1	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P5/F S2	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P5/F S3	- Petites colonies arrondies blanchâtre

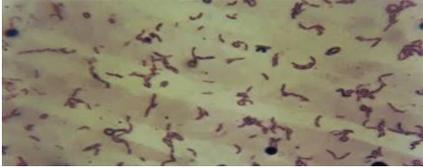
P5/F S4	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P5/F S5	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P2/M S1	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P2/M S2	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P2/M S3	- Colonies moyennes arrondies blanchâtre
P2/M S4	- Petites colonies arrondies blanchâtre
P2/M S5	- Petites colonies arrondies blanchâtre

Annexe VI : Résultat de la coloration de Gram

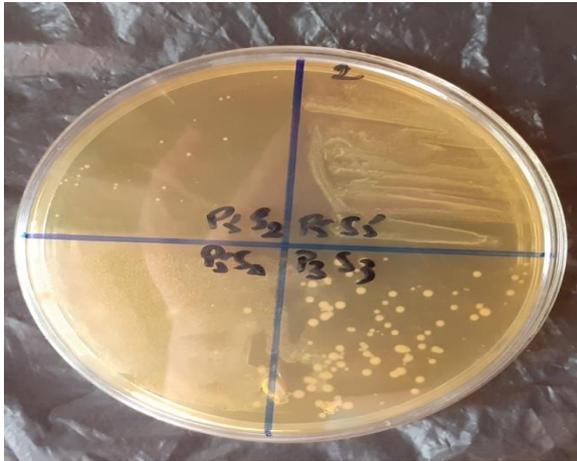
Code de la souche	Couleur	Gram (positif/négatif)	Forme des bactéries sous microscope	Mode de regroupement
P1/F S1	Violet	Positif	Bacilles	Isolées, en chaînette 
P1/F S2	Violet	Positif	Bacille coccobacille	Isolées, en chaînette, en amas 
P1/F S3	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, isolées 
P1/F S4	Violet	Positif	Bacille	isolées, en chaînette, en palissade 
P1/F S5	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, en palissade 
P2/F S1	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, en palissade 
P2/F S2	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, isolées 

				
P2/F S3	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, en palissade 
P2/F S4	Violet	Positif	Bacille	En chaînette 
P2/F S5	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, isolées 
P3/F S1	Violet	Positif	Bacille	En chaînette 
P3/F S2	Violet	Positif	Bacille	En chaînette 
P3/F S3	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, isolées 
P3/F S4	Violet	Positif	Bacille	En chaînette 

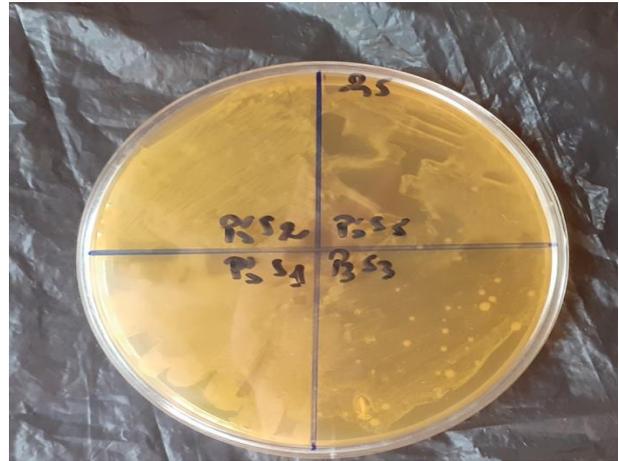
				
P3/F S5	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, en palissade, isolées 
P4/F S1	Violet	Positif	Cocci	Isolées
P4/F S2	Violet	Positif	Cocci	Diplo, amas, en chaînette 
P4/F S3	Violet	Positif	Cocci	Diplo, amas, en chaînette
P4/F S4	Violet	Positif	Cocci	Diplo, amas
P4/F S5	Violet	Positif	Cocci	Diplo, amas, en chaînette 
P5/F S1	Violet	Positif	Bacille	Isolées, regroupé, en chaînette, diplo 
P5/F S2	Violet	Positif	Bacille	Isolées, regroupé, en chaînette
P5/F S3	Violet	Positif	Bacille	Isolées, regroupé, en chaînette 

P5/F S4	Violet	Positif	Bacille, Coccobacille	Isolées, diplo, en chaînette 
P5/F S5	Violet	Positif	Bacille	Regroupé, en chaînette, diplo 
P2/M S1	Violet	Positif	Bacille	Isolées
P2/M S2	Violet	Positif	Bacille	Isolées, en chaînette 
P2/M S3	Violet	Positif	Bacille	isolées, en chaînette 
P2/M S4	Violet	Positif	Bacille	En chaînette
P2/M S5	Violet	Positif	Bacille	En chaînette, isolées 

Annexe VII : Exemples de résistance des souches aux différents pH et aux sels biliaires sur gélose MRS



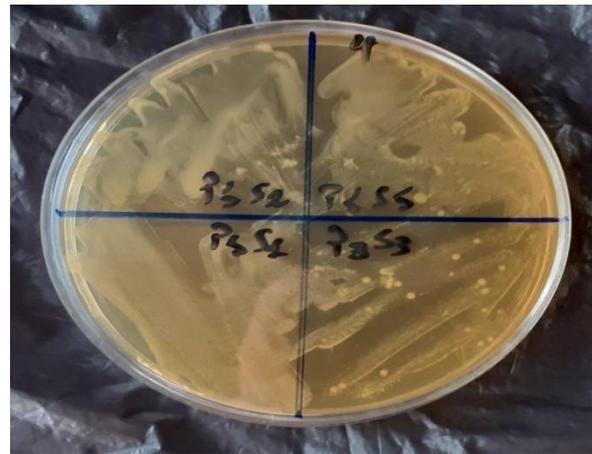
Résistance des souches au pH 2



Résistance des souches au pH 2,5



Résistance des souches au pH 3,5



Résistance des souches au pH 4



Résistance des souches aux sels biliaires

Résumé

Cette étude a pour objectif d'isoler des souches de bactéries lactiques ayant un potentiel probiotique, à partir de fiente du poulet de chair. Au préalable, une enquête sur les conditions d'élevage du poulet de chair a été réalisée au près de 15 éleveurs celle-ci a révélée que les pathologies les plus fréquentes en élevage de poulets de chair sont d'origine bactérienne, L'isolement à partir de 8 échantillons de fiente récoltée de deux régions situées dans la wilaya de Bejaïa a permis d'obtenir 30 isolats révélés tous Gram (+) et catalase (-). Ces derniers, sont considérés préalablement comme des bactéries lactiques. Les résultats du test de spots des 30 souches de bactéries lactiques retenues vis-à-vis *E.coli* ont montré que seules 19 souches sont inhibitrices, les résultats obtenus nous ont permis de sélectionner 5 souches ayant des activités inhibitrices dépassant 7mm. Ces dernières à leur tour ont été testées vis-à-vis *S. aureus*, *S. Typhi* et *Aspegillus sp*, ces souches ce sont révélées thermolabiles et homofermentaires. Les résultats de l'antibiogramme a montré que les souches sont sensibles à certains antibiotiques et résistantes à d'autres, Cependant P3/FS3 a montré une résistance vis-à-vis l'ensemble des antibiotiques testés, le résultat du test de l'activité hémolytique pour les 12 souches testées a montré que seule une souche est dotée d'une activité α -hémolyse (P4/FS1).

L'évaluation des aptitudes probiotiques nous a amené donc à une sélection de quatre souches de bactéries lactiques pouvant être utilisés comme probiotiques dans les élevages de poulets de chair

Mots clés : Poulet de chair, enquête, isolement, bactéries lactiques, probiotiques.

Abstract

The aim of this study is to isolate strains of lactic acid bacteria with probiotic potential from broiler stools. Beforehand, a survey on broiler rearing conditions was carried out among 15 farmers, which revealed that the most frequent pathologies in broiler rearing are of bacterial origin. Isolation from 8 stool samples collected from two regions located in the wilaya of Bejaïa made it possible to obtain 30 isolates, all of which were found to be Gram (+) and catalase (-). The latter are previously considered as lactic acid bacteria. The results of the spot test of the 30 strains of lactic bacteria retained against *E. coli* showed that only 19 strains are inhibitory, the results obtained allowed us to select 5 strains having inhibitory activities exceeding 7mm. These strains were in turn tested against *S. aureus*, *S. Typhi* and *Aspegillus sp*, which proved to be heat-labile and homofermentative. The results of the antibiogram showed that the strains are sensitive to some antibiotics and resistant to others, however P3/FS3 showed resistance to all the antibiotics tested, the result of the haemolytic activity test for the 12 strains tested showed that only one strain has α -haemolysis activity (P4/FS1).

The evaluation of probiotic abilities led us to a selection of four strains of lactic acid bacteria that can be used as probiotics in broiler farms.

Keywords : broiler, survey, isolation, lactic acid bacteria, probiotic.