

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Département de Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Etude de la viabilité d'une souche probiotique
au cours de la fabrication d'un aliment de
volaille**

Présenté par M^{elles} :

AMIR Sara & AROUA Tinhinane

Soutenu le : **15 Septembre 2022**

Devant le jury composé de :

Mme BENACHOUR Karima
Mme BENDALI Farida
Mr BENDJEDDOU Kamel

MAA Présidente
Pr Encadreur
MCA Examineur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné force et patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à saisir cette opportunité et adresser nos profonds remerciements à Mme le Professeur BENDALI Farida, pour nous avoir accompagnés durant ce travail, pour ses précieux conseils et son orientation et pour son soutien indéfectible et ses efforts fournis sans ménagement.

Nos vifs remerciements sont également adressés aux membres de jury, Madame BENACHOUR Karima qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et d'évaluer notre travail.

Monsieur BENDJEDDOU Kamel, pour son attention et le temps consacré à la lecture de ce document et son examen.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les enseignants de la Faculté SNV de l'université de Bejaia et du département de Microbiologie particulièrement pour les efforts fournis pour notre formation. Nous remercions également les ingénieurs de laboratoire pour leur accueil et leur disponibilité sans oublier tous ceux qui ont contribué à notre formation.

Nous adressons nos vifs remerciements à l'ensemble du Complexe Agro-Alimentaire (CAA) EL-Kseur (W. Bejaia) pour leur accueil et leur disponibilité lors de notre visite.

Enfin, nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cet humble travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

Aux êtres les plus chers pour moi, mes parents, grâce à vous j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité.

Je voudrais vous remercier pour votre amour, votre générosité, votre compréhension... Votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours pour vous, ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployé pour mon éducation et ma formation.

Je vous aime, et j'implore le tout-puissant pour qu'il vous accorde une bonne santé et une longue et heureuse vie.

A mes très chers frères Syphax et Yacine que j'aime énormément.

A ma petite sœur chérie Amira la prunelle de mes yeux.

A mes chères cousines et à toute ma famille.

A ma binôme Tinhinane pour le soutien et la patience afin de terminer ce travail.

A mes chers amis et camarades sans exception de la promotion de Microbiologie Appliquée 2021/2022.

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

SARA.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à ma source d'amour, de force et de patience, a la femme la plus forte qui ma bénie par ces prières ... Ma très chère mère.

A mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et ma dirigé vers la gloire, qui m'a toujours fait confiance ... Mon cher père.

A mon trésor, a celui que j'aime beaucoup tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager ... Mon mari

A mes uniques, mes amours, mon frère Taher et ma sœur Samah je vous dis merci pour tous les moments de joie et pour votre soutien aux moments difficiles je vous aime.

A mes sœurs et frères que ma mère n'a pas mis au monde, mes cousines Basma, Fatia, Hadjer, Nassima à la canada malgré la distance qui nous sépare mais je n'oublie pas votre soutien moral vous êtes mes vraies sœurs, sans oublier mes cousins toufik, hakim, masten, faycel ...merci.

Je tiens à remercier mon cher oncle Rachid et sa femme pour tout le bien qui m'ont fait tout au long de mon parcours.

A toute ma famille et ma belle- famille, merci pour leurs amours et leurs encouragements.

A ma binôme Sara pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

A mes amis et a toute et tous les étudiants de ma spécialité -Microbiologie appliquée- de la promotion : 2021/2022

Tinhinane

Lise des abréviations

B. : *Bacillus*.

BEA : Bile Esculine Agar.

BN : Bouillon nutritif.

CAA : Complexe agroalimentaire.

CMV : Complément Minéralo-Vitaminique

CV : Cellule de vidange.

E. : *Enterococcus*.

E. coli : *Escherichia coli*.

EM : Energie Métabolisable.

FAO : Food and Agriculture Organization.

FL : Flore lactique.

FT : Flore totale.

GN : Gélose nutritive

IC : Indice de consommation.

Kcal : Kilocalorie.

MG : Matière Grasse.

MH : Muller-Hinton.

MP : Matière première.

MRS : de Man Rogosa et Sharpe.

MS : Matière Sèche.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PBS: phosphate buffered saline.

PCA: Plate Count Agar.

ppm: partie par million.

UFC : Unité Formant Colonie.

YGC : Yeast Glucose Chloramphénicol.

Liste des figures

- Figure 1** : Diagramme de fabrication d'aliment de poulet aux niveaux de l'entreprise CAA..... 17
- Figure 2** : Absence d'activité antibactérienne (test des spots) de la souche d'entérocoques à l'égard de deux souches pathogènes (*E. coli*, *Salmonella enterica*)..... 35
- Figure 3** Absence d'activité antibactérienne (test des spots) de la souche de *Bacillus* à l'égard de deux souches pathogènes (*E. coli*, *Salmonella enterica*)..... 35

Liste des tableaux

Tableau I. Critères de sélection des probiotiques.....	13
Tableau II. Résultats du dénombrement des flores totale et lactique.....	31
Tableau III. Résultats du dénombrement des flores totale et lactique et des levures et moisissures.....	32
Tableau IV. Standardisation de l' <i>inoculum</i> des souches B1 et E1.....	33
Tableau V. Résultats du test de viabilité des souches B1 et E1.....	34
Tableau VI. Taux de viabilité des souches B1 et E1 sous conditions gastro-intestinales simulées.....	34

Sommaire

Sommaire

Introduction générale	1
-----------------------------	---

I- Partie bibliographique

1. Définition d'un aliment pour animaux	3
2. Aliments de volaille	3
2.1. Ingrédients de l'aliment de volaille	3
2.1.1. Les céréales et issues de céréales	3
2.1.2. Les oléagineux	5
2.1.3. L'eau	6
2.2 Additifs pour aliment de volaille	6
2.2.1. Critères d'autorisation des additifs pour alimentation animale	6
2.2.2. Classification des additifs	7
2.3. Types d'aliments de poulet de chair.....	8
2.3.1. Aliments simples.....	8
2.3.2. Aliments composés complets	9
2.3.3. Aliment de démarrage.....	9
2.3.4. Aliment de croissance.....	9
2.3.5. Aliment de finition	10
3. Facteurs de croissance	10
3.1. Antibiotiques	10
3.1.1. Usage des antibiotiques en aviculture	10
3.2. Prébiotiques	11
3.3. Probiotiques.....	11
3.3.1. Définition des probiotiques	11
3.3.2. Critères de sélection des probiotiques	11
3.3.3. Rôle des probiotiques	12
3.4. Procès industriel d'élaboration des aliments de volaille au niveau de l'entreprise CAA .	13
3.4.1. Réception des matières premières	14
3.4.2. Fabrication.....	14
4. Contraintes liées à l'incorporation des probiotiques dans les aliments.....	18
4.1. Les ingrédients alimentaires et les additifs	18
4.2. Oxygène	18
4.3. Température de stockage	18

4.4. Le pH	18
4.5. La durée de conservation	19
4.6. L'interaction entre les souches	19
5. Probiotiques utilisés en alimentation de volaille.....	19
5.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	19
5.2. Le genre <i>Pediococcus</i>	20
5.3. Le genre <i>Bacillus</i>	20
5.4. Le genre <i>Enterococcus</i>	20

II- Partie pratique

Matériel et méthodes

1. Provenance de l'aliment	24
2. Origine des souches test	24
3. Origine des souches pathogènes	24
4. Analyse microbiologique de l'aliment	24
4.1. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	25
4.2. Dénombrement de la flore lactique	25
4.3. Dénombrement et Recherche des entérocoques	26
5. Traitement thermique	26
6. Vérification de l'efficacité du traitement thermique.....	26
7. Test de résistance de la souche probiotique de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> à la température de granulation de l'aliment de volaille.....	27
8. Isolement et purification des souches obtenues sur boîte.....	27
9. Test de viabilité des souches isolées.....	27
9.1. Dénombrement des souches avant utilisation	28
9.2. Résistance à l'acidité gastrique.....	28
9.3. Résistance aux sels biliaires	28
10. Etude de l'activité antibactérienne des souches B1 et E1	29
10.1. Revivification des souches pathogènes et standardisation des <i>inocula</i>	29
10.2. Test de spots	30

Résultat et discussions

1-Analyse de l'aliment	31
1-1- Dénombrement des flores totale et lactique	31
1-2- Recherche des entérocoques.....	31
2- Analyse de l'aliment après traitement thermique	32

2-1 Dénombrement des flores totale et lactique et des levures et moisissures	32
2-2 Recherche des entérocoques	32
3- Isolement et standardisation des souches thermoresistantes	33
4- Viabilité sous les conditions simulées du tractus gastro-intestinal	34
5- Activité antibactérienne des souches B1 et E1	35
Conclusion générale.....	35
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction générale

En Algérie, depuis 1980 la production avicole est devenue parmi les productions animales ayant un fort potentiel de développement (**Alloui, 2011**). On trouve de nombreuses espèces avicoles produites, et le poulet de chair occupe la première place sur le plan économique, du fait de son rendement élevé, son faible coût de production par rapport à la viande rouge et sa haute valeur nutritionnelle. Cependant, la croissance considérée de cette filière a conduit à l'apparition de maladies virales et d'infections bactériennes, qui affectent la santé de la volaille et sont à l'origine de maladies d'origine alimentaire chez l'Homme notamment les infections à *Salmonella* et *Campylobacter* (**Fuller, 2001 ; Van Im- Mersel et al., 2004 ; Santini et al., 2010 ; Rouger et al., 2017**).

L'aliment constitue le facteur le plus important et le plus coûteux de tout élevage. Chez la volaille, il est généralement prévu 3 types d'aliments suivant la phase d'élevage : aliment de démarrage, aliment de croissance et aliment de finition. Ils sont composés en fonction des besoins nutritionnels du stade de développement du poulet. L'aliment doit être donné en quantité suffisante et doit contenir un bon équilibre d'ingrédients (**Buldgen, 1996 ; Ouarest, 2008**). En plus des éléments nutritifs, plusieurs additifs sont ajoutés à l'aliment de volaille pour améliorer sa digestibilité et les performances zootechniques de l'animal.

Parmi ceux-ci nous avons les antibiotiques. Cependant, l'utilisation abusive et incontrôlée de ces molécules comme facteurs de croissance dans le secteur avicole a entraîné une augmentation du nombre de souches bactériennes pathogènes multi-résistantes (**EUC, 2005 ; Chaisatit et al., 2012 ; Suresh et al., 2017**), ainsi que la présence de résidus d'antimicrobiens dans les aliments (viande, lait et œufs) et l'environnement (pollution des eaux et des sols) (**Carvalho et Santos, 2016 ; Ronquillo et Hernandez, 2017**). Pour cela, en 2006, l'union européenne a décrété l'interdiction de l'incorporation des antibiotiques dans l'alimentation animale (**Jha et al., 2020**). Cependant, ceci a engendré des problèmes de production qui sont liés à la diminution des performances zootechniques et la rentabilité économique des élevages du poulet de chair (**Mathlouthi et al., 2012**).

Pour faire face à ces contraintes, de nouvelles stratégies ont été développées et font l'objet de nombreuses recherches dans le but de trouver de bonnes alternatives pour limiter la propagation des bactéries résistantes, et parmi ces alternatives, les probiotiques suscitent beaucoup d'intérêt (**Caly et al., 2015 ; Al-Fatah, 2020 ; Rajput et al., 2020**). En effet, la supplémentation en microorganismes probiotiques permet d'améliorer la santé animale et humaine (**Riaz Rajoka et al., 2017**).

Il existe plusieurs espèces de microorganismes utilisées en tant que probiotiques dans l'alimentation avicole (**Khalique et al., 2020**). Chez le poulet de chair, les microorganismes probiotiques utilisés appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Sacharomyces* et à l'espèce *Clostridium butyricum* (**Fuller, 2001; Harimurti et Hadisaputro, 2015**).

Chez la volaille, les préparations probiotiques peuvent être composées d'une seule souche ou d'un mélange de deux ou plusieurs espèces (**Barrow, 1992 ; Alagawany et al., 2018**). Leurs effets bénéfiques sur la santé des poulets de chair sont l'amélioration des performances zootechniques (gain de poids, coefficient de digestibilité) (**Mehdi et al., 2018 ; Djezzar et al., 2019 ; Zaghari et al., 2020**) ainsi que des effets sanitaires (diminution des diarrhées et de morbidité) (**Jayaraman et al., 2013 ; Wang et al., 2017**).

Toutefois, plusieurs facteurs sont présumés avoir une influence sur la survie des souches probiotiques dans les aliments, leur viabilité dépend principalement des additifs ajoutés, de l'oxygène, température de fabrication net de stockage de l'aliment, pH et la durée de conservation (**Mattila-Sandholm et al., 2002 ; Gaudreau et al., 2013 ; Tripathi et Giri, 2014 ; Sondergaard, 2005**).

Ce travail a pour objectif d'étudier la viabilité d'une souche probiotique sous certaines contraintes liées au processus de fabrication d'un aliment de volaille. Pour atteindre cet objectif notre travail comporte les étapes suivantes :

- Suivi de processus de fabrication de l'aliment de poulet de chair au niveau du complexe agroalimentaire (CAA) d'El Kseur (W. Bejaia),
- Etude de viabilité de la souche probiotique,
- Analyse microbiologique de l'aliment,
- Isolement et caractérisation de nouvelles souches résistantes au processus de fabrication,
- Etude de certaines propriétés probiotiques des souches isolées.

Ce document comporte deux parties, la première partie est relative à la synthèse bibliographique comprenant des généralités sur l'aliment de volaille et sur les probiotiques, et la deuxième partie expérimentale présente le matériel et les méthodes utilisées, ainsi que les

résultats obtenus et leur discussion. Enfin, une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus et les perspectives de ce travail.

Partie bibliographique

1. Définition d'un aliment pour animaux

Un aliment pour animaux est toute matière, d'origine unique ou multiple, traitée, semi-traitée ou brute, destinée à être distribuée directement aux animaux élevés pour la consommation humaine. Les aliments destinés aux volailles sont majoritairement constitués de céréales : en moyenne de 34 % de blé, 27 % de maïs, 27 % de tourteau de soja et 12 % d'autres matières premières et dans une moindre mesure l'orge (**Batonon, 2014**).

2. Aliments de volaille

L'alimentation est l'un des enjeux majeurs de l'élevage avicole vu son rôle primordial dans le métabolisme animal, son coût économique et son impact environnemental (**Batonon et al., 2014**). Les volailles règlent en grande partie leur consommation d'aliment de façon à couvrir leurs dépenses énergétiques. En pratique, les recommandations alimentaires en protéines, acides aminés et minéraux sont indiquées en fonction de la teneur en énergie des régimes (**Bréchet et al., 2013**).

Les aliments pour poulet de chair sont généralement classés selon leurs particularités, à savoir ceux qui fournissent de l'énergie, les sources en protéines, de calcium et de phosphore et enfin, ceux qui apportent d'autres minéraux, les oligo-éléments et les vitamines (**Mahmoudi, 2001**).

2.1. Ingrédients de l'aliment de volaille

Les céréales, les issues de céréales, le manioc, les sources de protéines d'origine végétale, les matières premières d'origine animale ou minérale...sont les ingrédients de l'aliment de volaille.

2.1.1. Les céréales et issues de céréales

➤ Le maïs

C'est la matière première la plus importante, la principale source d'énergie en alimentation des volailles. Par rapport aux besoins nutritionnels, il est relativement carencé en protéines et en acides aminés (**Huart, 2004**). Il est très apprécié grâce à sa valeur énergétique élevée parmi les céréales qui est de 3370 Kcal d'énergie métabolisable avec un taux

d'incorporation de 80 % au maximum (**Drougoul et al., 2004 ; citée par Berradj et al., 2016**).

➤ **Le blé**

Le blé est très énergétique, le plus appétant avec une teneur de 12-13 % en protéines (**Ouarest, 2008**). L'amidon du blé (36 %) est bien digéré par le poulet de chair, avec une faible variabilité individuelle (**Belaid, 2016**). Le son de blé est un sous-produit de meunerie. Il est traditionnellement utilisé en alimentation animale. Il est constitué de particules fines de pellicules de grains de blé, séparées au moment de la production de la farine panifiable. Il contient également des particules de germes de blé. C'est un produit volumineux, plus riche en protéines que le blé entier, riche en phosphore, en vitamines du complexe B et en manganèse. Cependant, sa teneur élevée en cellulose limite ses possibilités d'incorporation dans les aliments pour volailles à 10 % pour des oiseaux en croissance et à 15 % maximum chez les adultes. Dans les pays les plus démunis en matières premières, ces maxima peuvent être augmentés à 15 et 20 % respectivement à condition toutefois qu'il soit de bonne qualité et que son taux d'acidité sulfurique soit au maximum de 0,20 (mesure effectuée en laboratoire) (**Huart, 2004**).

➤ **Le sorgho**

Le sorgho est une céréale secondaire fréquemment rencontrée en Afrique. La teneur en énergie reste élevée même si elle est en deçà de celle du maïs (**Huart, 2004**). Il a une forte teneur en amidon (70 % de la matière sèche) et une proportion non négligeable en matière grasse (environ 3,3 % de la matière sèche) (**FAO, 1990**).

➤ **L'orge**

L'orge est la deuxième céréale secondaire après le sorgho. D'après **Belaid (2016)**, l'orge est une matière première caractérisée par une valeur énergétique moyenne de (2800 Kcal/ kg brut). Il a une teneur en protéines plus élevée (jusqu'à 10 %) et un profil en acides aminés satisfaisant les besoins des volailles, Il est donc capable de fournir des éléments nutritifs nécessaires à la croissance du poulet de chair et à la production des œufs (**Belaid, 2015**).

2.1.2. Les oléagineux

➤ Le soja

Le soja est une matière première riche en protéines et en acides gras essentiels pour le poulet. Il pourrait être utilisé après élimination des facteurs anti-trypsiques thermolabiles qui réduisent la disponibilité des protéines et des acides aminés (**Lessire et al., 1988**).

➤ Le colza

La graine de colza peut être utilisée comme matière première en aviculture grâce à sa teneur en énergie métabolisable est donc très élevée (4460 Kcal /Kg de matière sèche). Il est très riche en matière grasse, il est donc possible d'incorporer jusqu'à 10 % de graines de colza dans l'aliment destiné aux volailles (**Leclercq et al., 1989**).

➤ Le tournesol

La graine de tournesol a une forte valeur énergétique, est une des graines les plus riches en matière grasses (45 % de matière grasse), mais sa valeur azotée est faible (**Odiene Claire et al., 2016**).

➤ Les tourteaux

Ce sont les coproduits (sous-produits) de la trituration des graines oléagineuses. Les tourteaux constituent la 2^{ème} classe d'aliments la plus importante après les céréales. En effet, ils représentent la principale source de protéines en alimentation aviaire. Le tourteau de soja représente plus de 50 % du total de la production mondiale de tourteaux de protéines (**Ouarest, 2008**).

2.1.3. Les brisures de riz

Le riz, dans les pays où il est cultivé, est trop cher pour être utilisé directement en alimentation animale, sauf circonstances exceptionnelles. Il s'agit de grains de riz cassés qui sont triés après le polissage. C'est donc une matière première de grande valeur énergétique mais pauvre en protéines. Après broyage, elle entre largement dans l'alimentation des volailles, à condition de rééquilibrer la formule en protéines et acides aminés. Les brisures de riz ne contiennent pas de pigments caroténoïdes, il faut en tenir compte en formulation (**Huart, 2004**).

2.1.4. L'eau

L'eau est le principal constituant du corps des poulets (près de 75 % à l'éclosion et 55 % à l'âge adulte). L'eau distribuée aux volailles doit être potable. Les volailles, boivent presque des fois plus qu'elles mangent (ANSEJ, 2010).

2.2. Additifs pour aliment de volaille

Il s'agit de tout ingrédient ajouté intentionnellement et n'étant pas normalement consommé comme aliment en tant que tel qu'il ait ou non une valeur nutritionnelle, ayant un effet sur les caractéristiques de l'aliment ou des denrées alimentaires d'origine animale. Les microorganismes, enzymes, régulateurs de pH, oligoéléments, vitamines et autres produits peuvent relever de cette définition, en fonction du but dans lequel ils sont utilisés et de leur mode d'administration (FAO/OMS, 2007).

Les additifs, utilisés en alimentation animale, peuvent être définis comme des substances chimiques pures, d'origine naturelle ou synthétique, des préparations enzymatiques ou des microorganismes, qui sont ajoutés aux aliments en faible quantité pour modifier ou améliorer leurs propriétés technologiques, ou augmenter leur efficacité zootechnique (Blain, 2002).

Ces additifs, dont la liste autorisée est strictement définie ont en réalité des rôles majeurs: pour compléter une formule insuffisamment équilibrée, avec des minéraux, des oligo-éléments, par exemple, pour augmenter l'appétence d'un aliment, pour aider à conserver les nutriments les plus fragiles, pour protéger les produits des contaminations microbiennes. « Additif » ne signifie donc pas artificiel, il s'agit d'un plus apporté à la sécurité alimentaire des animaux domestiques (Haddad, 2009).

2.2.1. Critères d'autorisation des additifs pour alimentation animale

Pour être autorisé en alimentation animale, un additif doit remplir certaines conditions (Goudoud, 1992) :

- 1- Innocuité pour la santé humaine des denrées provenant d'animaux ayant consommé l'additif.
- 2- Efficacité zootechnique prouvée, sans altération des produits animaux.

3- Innocuité pour l'animal : absence de toxicité et de perturbation des grandes fonctions de l'organisme.

4- Condition de contrôle : le contrôle qualitatif de l'additif doit être possible à l'aide de méthodes fiables.

5- Caractéristiques technologiques : homogénéité, compatibilité avec les autres constituants de la ration.

2.2.2. Classification des additifs

Les additifs utilisés en alimentation animale peuvent être classés en deux catégories principales (**Blain, 2002**) :

- **Additifs technologiques**

Ils agissent directement sur l'aliment en modifiant ses propriétés physiques, son aptitude à la conservation, ou qui vont réduire les nuisances provoquées par les déjections animales, en les modifiant quantitativement, ou qualitativement, en augmentant la digestibilité de certains constituants.

- **Additifs zootechniques**

Ils agissent directement sur l'animal, en améliorant ses performances zootechniques ou en prévenant les carences nutritionnelles ou certaines maladies parasitaires. Les additifs zootechniques se divisent en deux groupes :

- Les nutriments rajoutés à l'état pur aux aliments,
- Les non-nutriments, facteurs de croissance ou de prévention de maladies parasitaires.

Selon **Blain (2002)**, parmi les additifs technologiques nous avons :

- **Les conservateurs**

- **Antimicrobiens** : substances ou micro-organismes qui protègent les aliments pour animaux des altérations dues aux microorganismes ou à leurs métabolites et empêchent les fermentations.

- **Les anti-oxygènes ou antioxydants** : substances prolongeant la durée de conservation des aliments et des matières premières pour aliments des animaux en les protégeant des altérations provoquées par l'oxydation.

➤ **Les modificateurs de la digestibilité**

- **Enzymes** : depuis quelques années, l'utilisation d'enzymes sous forme d'additifs, permet d'améliorer la digestibilité de certains nutriments des céréales et des tourteaux utilisés dans les aliments composés.

Selon **Blain (2002)**, parmi les additifs zootechniques nous avons :

➤ **Nutriments**

- **Acides aminés** : parmi lesquels nous avons la **Lysine** qui peut également être ajouté sous forme synthétique et la **Méthionine/Méthionine protégée**, qui sont essentiels à la synthèse des protéines (**Dormont, 2000**).

- **Vitamines** : Les sources de vitamines sont naturelles ou artificielles, elles sont présentées dans des huiles de foies de poissons, de tourteau de soja, de céréales...etc. Ajoutées soit sous forme de poudres dans lesquelles les vitamines A, D, E et C sont le plus souvent protégées par divers procédés, comme l'enrobage, soit sous forme de complexes vitaminiques, en poudre ou en hydrosols, associant plusieurs vitamines.

- **Composés minéraux vitaminés (C.M.V)** : appelés dans la nouvelle législation « aliments minéraux ». Ces aliments peuvent :

- Etre distribués seuls, en poudre ou en granulés, dans des auges à la disposition des animaux.

- Etre compactés en pierres à lécher associant minéraux majeurs, oligoéléments, vitamines ...etc. ;

2.3. Types d'aliments de poulet de chair

2.3.1. Aliments simples

Les aliments simples sont les différents produits d'origine végétale ou animale, à l'état naturel, frais ou conservés, et les dérivés de leur transformation industrielle, ainsi que les

substances organiques ou inorganiques, comprenant ou non des additifs, qui sont destinés tels quels à l'alimentation animale (**Fédéral Suisse, 2005**).

Un aliment simple ou matière première est un aliment à l'état naturel, ou alors un aliment qui n'a subi que de simples opérations de pré- transformation. La particularité d'un aliment simple est qu'il ne contient que quelques éléments nutritifs (énergie, protéines, vitamines...) en qualité et en quantité insuffisantes pour satisfaire à lui seul les besoins de l'animal (**FAO, 2018**).

2.3.2. Aliments composés complets

Un aliment complet est adapté d'un point de vue nutritionnel, et formulé grâce à une formule spécifique, destiné à être distribué comme ration unique et capable maintenir en vie et/ou de promouvoir la production sans addition d'une quelconque autre substance supplémentaire, à l'exception de l'eau (**FAO, 2013**).

2.3.3. Aliment de démarrage

La phase de démarrage correspond aux 28 premiers jours de la vie du poussin. En pratique, cette phase est très délicate, notamment parce qu'il est difficile d'apporter les acides aminés soufrés (méthionine et cystine) en quantité suffisante dans la ration. Il faudra veiller, en particulier durant cette phase à apporter ces nutriments limitants tout en évitant d'apporter en excès des protéines afin de respecter rigoureusement les exigences nutritionnelles et les équilibres entre les différents acides aminés et, notamment en vitamines A et D3 (**Hervé et al., 2015**).

Le poulet présente une croissance plus rapide et un meilleur indice de consommation lorsqu'il reçoit pendant la phase de démarrage un aliment présenté en miettes et ensuite en granulés. Cette amélioration de performances sous l'effet de la granulation s'atténue cependant à mesure que la teneur énergétique des aliments s'élève ; elle n'est guère perceptible au-delà de 3200 Kcal d'Energie métabolisable/kg (**Larbier et al., 1991**).

2.3.4. Aliment de croissance

L'aliment de croissance généralement s'administre durant les 14- 16 jours, après celui du démarrage. La transition de l'aliment du démarrage à celui de croissance implique un changement de texture : de miettes ou mini-granulés à granulés entiers. Dépendant de la taille

du granulé du produit, il s'avère nécessaire que la première formulation de l'aliment, soit donnée en forme de miettes ou mini granulés. Durant ce temps-là, la croissance du poulet se fait d'une façon dynamique ; donc, la consommation de l'aliment doit être adéquate. Aussi, pour obtenir des résultats optimums de la consommation de l'aliment, croissance et conversion alimentaire, il faut fournir aux oiseaux une formulation d'aliment correcte, surtout en énergie et en acides aminés (**Aviagen, 2010**). Durant cette période d'élevage, l'aliment démarrage sera remplacé par une ration moins riche en protéines (**Buldgen et al., 1996**).

2.3.5. Aliment de finition

L'aliment de croissance sera remplacé durant cette période, par un aliment de finition moins concentré en protéines et plus riche en énergie tout en respectant l'équilibre énergétique/protéique. Il est à noter que toute déficience nutritionnelle en un ou plusieurs acides aminés durant les deux premières phases d'élevages se traduit par une diminution du rendement en filet à la fin de cette période (Leclercq et Beaumont, 2000 citée par **Ouarest, 2008**).

3. Facteurs de croissance

3.1. Antibiotiques

Les antibiotiques ont été utilisés en continu sous forme d'additifs alimentaires. Ils sont incorporés à la ration alimentaire en très faibles quantités : en moyenne entre 5 et 50 ppm (partie par million). A cette concentration, les antibiotiques sont considérés comme n'ayant aucun effet sur les pathologies infectieuses. L'efficacité des antibiotiques comme facteurs de croissance dépend de nombreux facteurs et notamment de l'espèce animale, de la nature et de la dose des substances employées, de l'âge et de l'état des animaux (**Blain, 2002**).

3.1.1. Usage des antibiotiques en aviculture

Malgré tous les avantages apportés par les antibiotiques à l'industrie de production animale, en termes de santé, mais aussi d'économie, une conséquence inquiétante de l'utilisation de ces produits est apparue, dès les années 1950. En effet, l'utilisation d'antibiotiques, a conduit à la sélection de souches bactériennes résistantes, par élimination des souches sensibles (**Behira, 2012**).

L'Union européenne a interdit d'incorporer dans les aliments pour animaux les antibiotiques utilisés en médecine humaine. Le nouveau règlement sur les additifs dans les aliments pour animaux complète cette interdiction d'utiliser les antibiotiques comme facteurs de croissance dans l'alimentation des animaux à partir du 1^{er} janvier 2006 (CEE, 2005).

3.2. Prébiotique

Le vocable « prébiotique » a été proposé en 1995 (Gibson et Reberfroid, 1995) pour désigner des composants annexes de l'alimentation, non digestibles par les enzymes du tractus digestif, susceptibles de stimuler la multiplication et l'activité de certaines souches bactériennes, composants normaux de la microflore digestive, au bénéfice de l'hôte qui les héberge.

3.3. Probiotiques

L'exploration du microbiote a permis d'identifier des bactéries susceptibles de lutter efficacement contre certains agents pathogènes et qui pourraient être utilisées comme probiotiques aux moments critiques de la vie de l'animal. Ces bactéries sont capables de stimuler les défenses immunitaires de l'animal et de prévenir certaines pathologies (Charpiny, 2018).

3.3.1. Définition des probiotiques

Aujourd'hui, selon la définition adoptée par le groupe de travail mixte formé par l'Organisation des Nations Unies (ONU) pour l'agriculture et l'alimentation et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS) (FAO/OMS, 2002), les probiotiques sont des « microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte ».

3.3.2. Critères de sélection des probiotiques

Afin de satisfaire à la définition des probiotiques, les microorganismes doivent posséder des propriétés de survie, d'activité et de persistance dans le tractus digestif qui leurs permettant d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte (Dunne et al., 2001). Ils doivent être des souches non pathogènes, non toxiques et non allergisantes (Hill et al., 2014). Il est difficile, voire même impossible de sélectionner une souche probiotique idéale remplissant la totalité

des critères de sélection (Tufarelli et Laudadio, 2016). Le tableau I regroupe les critères de sélection d'une souche probiotique.

3.3.3. Rôle des probiotiques

Les probiotiques jouent un rôle majeur dans le maintien de l'équilibre et de la stabilité du microbiote intestinal, principalement, en empêchant l'infection, la croissance de bactéries potentiellement nocives et en améliorant la réponse immunitaire. D'une manière générale, les probiotiques sont capables d'exercer leurs effets bénéfiques selon trois mécanismes principaux comprenant l'amélioration de la fonction barrière de la muqueuse intestinale et la modulation du système immunitaire (Bermudez-Brito et al., 2012).

L'usage des probiotiques en alimentation animale vise à réduire les difficultés d'un dérèglement de la flore intestinale chez le jeune animal qui est à l'origine des entérites (Florent et Roberton, 1997).

Plusieurs études chez la volaille ont démontré que les probiotiques prévenaient les infections microbiennes notamment celles provoquée par *Salmonella* et amélioraient les performances zootechniques, et plusieurs effets bénéfiques ont été attribués à l'apport des probiotiques en élevage de volailles, ces effets bénéfiques sont nombreux et variés selon la souche, il s'agit d'effet sur la croissance, le microbiote intestinal, et sur la morphologie intestinale, la réponse immunitaire et sur la qualité de la viande (Florent et Roberton, 1997).

3.3.4. Efficacité des probiotiques en aviculture

Plusieurs études ont prouvé l'effet bénéfique des probiotiques dont *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Bacillus* sur la santé et sur les performances du poulet de chair (Higgins et al., 2010).

Le plus important avantage de l'application des probiotiques chez le poulet de chair est qu'ils ne laissent aucun résidu dans les viandes ce qui garantit la sécurité du consommateur. D'autre part ils préviennent les infections et l'implantation des microorganismes pathogènes chez le poulet de chair (La regione et al., 2004 ; Awaad et al., Deng et al., 2020).

Tableau I. Critères de sélection des souches probiotiques (Tripathi et Giri, 2014).

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> -Identification taxonomique exacte -Non toxique, non pathogène -Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> -Adapté à une production de masse et au stockage - Viabilité des populations élevée dans le produit commercialisé (10^6 à 10^8 UFC/g) -Stabilité des caractéristiques désirées pendant la préparation et le stockage -Qualités organoleptiques souhaitables (ou pas de qualités indésirables) lorsqu'ils sont inclus dans des aliments ou des procédés de fermentation -Génétiquement stable
Compétitivité	<ul style="list-style-type: none"> -Survie et activité métabolique au niveau du site cible <i>in vivo</i> -Tolérance à l'acidité et aux sels biliaires et aux enzymes digestives -Capable de rivaliser avec le microbiote résidant et le métabolisme fermentaire -Adhérence et colonisation potentielle
Performances et fonctionnalités	<ul style="list-style-type: none"> -Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé (efficacité documentée et prouvée dans des études <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>) -Action antagoniste vis-à-vis de bactéries pathogènes -Production de substances antimicrobiennes et/ou bioactives (enzymes, peptides, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, acides organiques ou autres composés inhibiteurs) -Propriétés immunostimulantes, antimutagène et anti-cancérigène

3.4. Process industriel d'élaboration des aliments de volaille (Ex. du complexe agroalimentaire, El Kseur)

Le processus d'élaboration et de fabrication des aliments composés peut se dérouler en 3 phases principales (réception, fabrication et expédition) (Larbier et al., 1992).

Ces trois étapes sont précédées d'une étape de recherche et de **formulation** assurée par un responsable de formulation à l'unité qui compose des recettes équilibrées pour chaque type d'animaux. Dans un souci de traçabilité, la fabrication des aliments composés est prise en charge par un système informatique permettant de suivre en continu le processus appelé aussi **process**.

3.4.1. Réception des matières premières

Dès l'arrivée de la matière première à l'unité, elle subit un contrôle du poids à l'aide d'un pont bascule pour s'assurer du poids net. Après, elle fait l'objet d'un prélèvement d'échantillon, pour un contrôle qualité, si celles-ci sont conformes, elles seront stockées dans des silos ou dans des magasins, dans le cas échant, elles seront refusées.

3.4.2. Fabrication

➤ **Nettoyage**

Le nettoyage des matières premières est assuré par une double action émotteur – aspirateur. L'émoteur permet d'écarter les débris métalliques à l'aide d'un aimant, alors que l'aspirateur élimine les particules fines telles que la poussière.

➤ **Dosage et pré mélange**

L'usine dispose de deux bennes peseuses correspondant chacune à des produits dont les dosages requièrent une précision plus ou moins grande selon les pourcentages dans une formule donnée. Une fois les matières premières sont dosées, elles sont dirigées vers une grande trémie pour un premier mélange grossier, appelé pré- mélange.

➤ **Broyage**

Seules les matières premières grossières subissent un broyage mécanique à l'aide du broyeur à marteaux dans l'objectif d'obtenir une granulométrie plus petite et/ou de réaliser des mélanges homogènes.

➤ **Mélange**

C'est l'étape la plus importante de la ligne de fabrication et critique car toutes les matières premières vont d'être mélangées dans le but d'avoir un produit homogène et

correspond à la formule de base. Au cours de cette étape, le pré-mélange broyer part vers une mélangeuse et s'y ajoute le reste des matières premières à savoir :

- Les liquides (huile de soja, choline liquide, mélasse) ;
- Les minéraux (carbonate de calcium, phosphate bi calcique, sel, bicarbonate de sodium,) ;
- Les additifs et le CMV (Complément Minéralo-Vitaminique)

➤ **Distribution**

Le mélange ainsi préparé passe vers une trémie sous-mélangeuse puis il sera transporté par un transporteur et élévateur vers un distributeur. Selon le type de produit fini désiré « Granulé ou Farine », le mélange est envoyé :

- Soit directement dans des cellules de vidange afin d'être expédié directement sous la présentation farine.
- Soit stocké dans des cellules de presse afin de les envoyer vers les presses.

➤ **Pressage**

Le mélange est dirigé vers une presse dans laquelle est injectée la vapeur pour obtenir une pâte à 85°C. Cette pâte est ensuite poussée vers un anneau d'acier perforé où elle prend la forme de spaghettis qui seront découpés par la suite en morceaux de quelques millimètres donnant ainsi des granulés.

➤ **Refroidissement**

Le refroidissement consiste à refroidir et à sécher les granulés afin d'éliminer l'excès d'eau et aussi d'assurer leur consistance.

➤ **Emiétage**

Il s'effectue à l'aide d'un émetteur qui sert à casser les granulés en particules de taille variante selon la granulométrie du produit voulue appelant miette.

➤ **Tamisage**

Il s'effectue à l'aide d'un tamiseur composé de 3 trémies dont le rôle est de séparer :

- Les grands granulés qui seront retournés à l'émetteur pour être cassés de nouveau ;
- Les fins qui seront retournés vers la presse en suivant les étapes de granulation ;
- Le bon granulé qui sera transporté vers les cellules de vidange.

➤ **Expédition**

Selon les commandes demandées, les produits finis seront expédiés soit :

- **En sac** de 50 Kg, à l'aide d'une ensacheuse.
- **En vrac**, directement dans des camions citernes à partir des cellules de vidange.

Le schéma suivant (**figure 1**) présente les différentes étapes de fabrication suivies depuis la matière première jusqu'au produit fini.

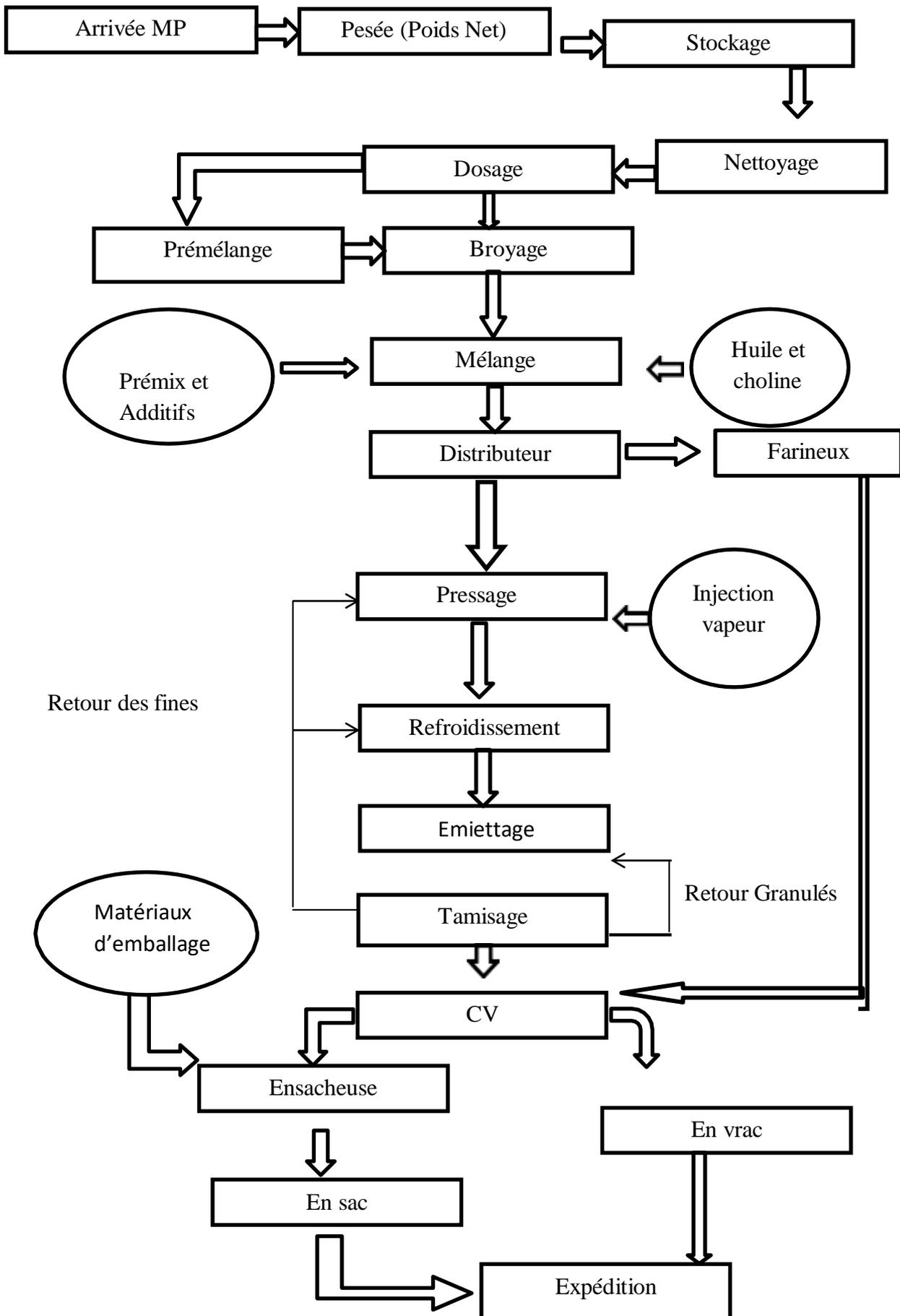


Figure 1 : Diagramme de fabrication d'aliment de poulet aux niveaux de l'entreprise CAA

4. Contraintes liées à l'incorporation des probiotiques dans les aliments

Plusieurs facteurs sont présumés avoir une influence sur la survie des souches probiotiques dans les aliments, leur viabilité dépend principalement de :

4.1. Ingrédients alimentaires et additifs

Les ingrédients dans les aliments peuvent avoir un effet protecteur, neutre, ou nuisible à la stabilité des probiotiques (**Mattila-Sandholm et al., 2002**), d'où la compatibilité des probiotiques avec différents ingrédients alimentaires joue un rôle important dans leur survie.

4.2. Oxygène

L'exposition à l'oxygène joue un rôle majeur dans la perte de la viabilité des bactéries sensibles à l'oxygène (**Gaudreau et al., 2013 ; Tripathi et Giri, 2014**).

La tolérance à l'oxygène chez les bactéries probiotiques est souche dépendante, mais en général les lactobacilles sont plus tolérants à l'oxygène que les bifidobactéries en raison de la nature anaérobie de ces dernières (**Sondergaard, 2005**). Plusieurs méthodes ont été utilisées pour réduire la teneur en oxygène pendant le conditionnement et le stockage des aliments probiotiques, des méthodes comprennent l'emballage sous vide, utilisation des matériaux d'emballage avec une faible perméabilité à l'oxygène, l'ajout d'antioxydants et fixateurs d'oxygène au produit, et le contrôle du processus de production de telle sorte de minimiser l'entrée d'oxygène dissous dans le produit (**Tripathi et Giri, 2014**).

4.3. Température de stockage

La viabilité des bactéries probiotiques pendant le stockage est inversement proportionnelle à la température de stockage (**Gardiner et al., 2000**). Les produits alimentaires contenant les probiotiques doivent être de préférence conservés à une température ambiante (**Tripathi et Giri, 2014**).

4.4. pH

La survie des souches probiotiques au cours du stockage est considérablement influencée par le pH et l'acidité titrable des produits (**Mortazavian et al., 2010**). Une très

faible valeur du pH augmente la concentration d'acides organiques non dissociés, en augmentant ainsi l'effet bactéricide de ces acides (Tripathi et Giri, 2014).

4.5. Durée de conservation

Il est important que le taux d'inoculation des probiotiques doit être suffisamment élevé pour assurer un nombre de cellule minimum à la fin de la période de conservation (Sondergaard, 2005).

4.6. Interaction entre les souches

Des cultures mixtes et des interactions entre les différentes souches peuvent entraîner une stimulation, inhibition ou une absence d'effets sur le taux de croissance microbienne et l'activité métabolique (Vinderola et al., 2002).

5. Probiotiques utilisés en alimentation de volaille

5.1. Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* fait partie de la famille des *Lactobacillaceae*. Ce sont des bactéries à Gram positif, anaérobies facultatives ou micro aérophiles, généralement immobiles, asporulées et à catalase négative souvent regroupées en chaînes, elles se développent en un large spectre de température de (2 à 53°C) et dans un pH optimal de 5,5 à 6,2. Certaines espèces de ce genre sont utilisées comme des agents de fermentation lactique dans de nombreuses industries (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al., 1994).

Ces bactéries sont caractérisées par des exigences nutritionnelles nombreuses en plus de la source de carbone et d'azote, les lactobacilles ont besoin de vitamines telle que la vitamine (B5), la niacine (B3) et de la cobalamine (B12) ainsi que des ions Mg^{2+} et Mn^{2+} ou Fe^{2+} pour leur croissance (de Vos et al., 2009). Elles choisissent leur habitat selon ces exigences, on les retrouve dans les substrats riches en hydrate de carbone, ainsi que dans les muqueuses de l'Homme et de l'animal et en faibles quantités sur les végétaux (Tialliez, 2004).

5. 2. Le genre *Pediococcus*

Ces bactéries sont des coques homofermentaires dont la particularité est leur regroupement en tétrade, elles sont immobiles, aérobies à microaérophiles (**de Roissart et Luquet, 1994**). Le plus souvent incapables d'utiliser le lactose et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance, certaines espèces peuvent se développer à des teneurs très élevées en sels (**Pilet et al., 2005**) et donc capables de résister à différentes conditions environnementales. Les pédiocoques s'adaptent mieux aux habitats végétaux, plusieurs espèces appartiennent à ce genre dont *Pediococcus pentasaceus*, *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus parvulus* (**de Roissart et Luquet, 1994**). Ces espèces ne présentent aucun risque de pathogénicité ni pour l'Homme ni pour l'animal, mais présentent des effets bénéfiques sur la flore intestinale pour cela, elles sont utilisées comme probiotiques notamment l'espèce *Pediococcus acidilactici* (**Djezzar, 2013**).

5.3. Le genre *Bacillus*

C'est des bacilles à Gram positif, formant des spores non déformantes. Ce genre est largement répandu dans la nature, il peut se retrouver dans différents aliments, en particulier les produits déshydratés tels que les céréales. Il se développe aux températures très élevées ce qui le rend résistant à la transformation des aliments (**Mosseli et al., 2004**).

L'utilisation de *Bacillus* dans l'aliment de poulets permet d'améliorer la santé intestinale grâce à plusieurs modes d'action : consommation d'oxygène, stimulation des bactéries produisant de l'acide lactique, réduction de la population de bactéries pathogènes (**Kato et al., 2007**). Plusieurs études ont montré la baisse des bactéries de type *Salmonella* et *Clostridium perfringens* après l'utilisation de *Bacillus* (**Maruta et al., 1996**), d'autres études ont aussi mis en évidence une diminution de la flore pathogène lorsque *Bacillus* est utilisé dans l'aliment de poulet (**Ragionne, 2001**).

5.4. Le genre *Enterococcus*

Les entérocoques sont des bactéries ubiquitaires appartenant à la flore commensale du tube digestif de l'Homme et des animaux (**Flahaut et al., 2011**). Ils peuvent se retrouver dans les eaux douces, usées et de mer mais aussi dans le sol et sur les végétaux (**Aguilar-Galvez et al., 2012**). Les espèces les plus rencontrées chez l'Homme sont *En. faecalis* et *En. faecium*, ce dernier est aussi prédominant chez la volaille (**Sanders, 2005**).

Ces bactéries sont également utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et rentrent dans la composition de certains aliments probiotiques (**Celiberto et al., 2017**), du fait de leur résistance aux températures de pasteurisation et aux conditions environnementales (**Foulquié Moreno et al., 2006**).

Partie pratique

Matériel et méthodes

L'objectif de ce travail consiste en l'étude de la viabilité d'une souche probiotique au cours de la fabrication d'aliment de volaille, qui a été réalisé au niveau de l'université de Bejaia, durant la période allant du mois de Mai au mois de Juin 2022.

1. Provenance de l'aliment

L'aliment utilisé a été gracieusement fourni par le complexe agro-alimentaire d'El-Kseur (CAA, unité aliment de bétail) wilaya de Bejaia. Il consiste en trois types d'aliments (démarrage, croissance et finition), destinés respectivement aux trois phases d'élevage du poulet de chair.

2. Origine des souches test

Dans cette étude trois souches ont été testées. Il s'agit :

- D'une souche probiotique de *Lactiplantibacillus plantarum*, faisant partie de la collection des souches microbiennes du laboratoire de Recherche en Microbiologie Appliquée.
- Deux nouvelles souches bactériennes isolées de l'aliment de volaille traité thermiquement.

3. Origine des souches pathogènes

Deux souches pathogènes aviaires (*Escherichia coli* et *Salmonella enterica* Typhymurium) ont été utilisées dans cette étude. Ce sont des souches de la collection microbienne du laboratoire de Recherche en Microbiologie Appliquée (Université de Bejaia).

4. Analyse microbiologique de l'aliment

Afin de vérifier la charge microbienne de l'aliment de volaille, récupéré juste avant mise en sac, un dénombrement de la flore totale a été effectué. En parallèle, un dénombrement de la flore lactique et un dénombrement et une recherche des entérocoques ont été réalisés et ce afin de vérifier l'effet de la température de granulation (55-60°C) sur la persistance de certaines flores.

4.1. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Après récupération de l'aliment dans des bocaux stériles, un broyage des trois types d'aliments (démarrage, croissance, finition) a été effectué, devant le bec bunsen, dans un mortier en porcelaine stérile en utilisant un pilon stérile.

Par la suite, un gramme de chaque aliment a été transféré dans des tubes stériles contenant 9 mL d'eau physiologique (9 g/L NaCl). A partir de cette solution mère (10^{-1}) et à l'aide d'une micropipette, une dilution décimale (10^{-2}) a été réalisée dans 9 mL d'eau physiologique pour les trois aliments. A partir de cette dilution, 1 mL a étéensemencé en masse dans la gélose PCA (Plate Count Agar, Liofilchem, Italie) pour le dénombrement de la flore totale. L'incubation des boîtes de Petri a été effectuée à 30°C pendant 48 h.

Après incubation, le dénombrement a été réalisé selon la formule suivante (**Guiraud, 2003**):

$$N = \frac{\sum C}{v(n_1 + 0,1n_2)d}$$

N : Nombre d'UFC par gramme ou par mL de produit initial.

$\sum C$: Somme totale des colonies comptées.

n_1 : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution (la plus faible).

n_2 : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution (la plus forte).

d : Taux de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

v : le volume de solution déposée

4.2. Dénombrement de la flore lactique

A partir de la dilution (10^{-1}), 1 mL a étéensemencé en masse dans la gélose MRS (de Man Rogosa et Sharpe, GranuCult, Allemagne) pour le dénombrement de la flore lactique. L'incubation des boîtes de Petri a été effectuée à 30°C pendant 72 h. La détermination du nombre d'UFC/g a été effectuée suivant la formule citée en haut.

4.3. Recherche des entérocoques

Pour la recherche des entérocoques, 1 mL de la dilution 10^{-1} a été inoculé dans des tubes contenant 9 mL de bouillon de Roth (Condalab, Espagne), suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 h. Après la période d'incubation, 1 mL de chaque tube de bouillon de Roth positif (présence de trouble) a été transféré dans des tubes contenant 9 mL de bouillon Eva-Litsky (Liofichem, Italie). Ces derniers ont été incubés à 37°C pendant 24 h.

Une confirmation de la présence des entérocoques a été effectuée sur milieu BEA. Pour cela, à partir des tubes de milieu Eva-Litsky positifs (présence de trouble et de noircissement), un isolement en stries a été effectué sur milieu BEA, suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 h.

5. Traitement thermique

Environ 50 g de chaque aliment (démarrage, croissance, finition) ont été mis dans un flacon en verre et stérilisé au four Pasteur à 90°C/20 min.

6. Vérification de l'efficacité du traitement thermique

Un dénombrement de la flore totale dans le milieu PCA, flore lactique dans la gélose MRS et des levures et moisissures dans le milieu YGC (Yeast Glucose Chloramphénicol) a été effectué sur les trois aliments. De même, une recherche des entérocoques a été effectuée comme décrite précédemment.

Pour cela, 1 g de chaque aliment, traité thermiquement, a été broyé stérilement (comme décrit plus haut) puis versé dans un tube contenant 9 mL d'eau physiologique afin de préparer la solution mère (10^{-1}). Par la suite, 1 mL de cette solution a été introduit dans un tube de 9 mL d'eau physiologique pour préparer la dilution décimale (10^{-2}). A partir des deux dilutions, trois boîtes de Petri ont été ensemencées en masse pour les flores totale et lactique, et les levures et moisissures, en portant 1 mL de la dilution correspondante dans la gélose. D'autre part, 1 mL a été introduit dans trois tubes contenant 9 mL de milieu de Roth.

A l'issue de la période d'incubation, 48 h à 30°C (flores totale et lactique) et de 5 jours à 28°C (levures et moisissures), un dénombrement des colonies apparues sur les différents milieux a été effectué. En parallèle, la présence de trouble dans le milieu de Roth a été inspectée et 1 mL des bouillons de Roth positifs a été ensemencé dans le milieu d'Eva-Litsky.

Ce dernier a été reincubé à 37°C/ 24 h puis un isolement en stries a été effectué sur milieu BEA, suivi d'une incubation à 37°C/24 h. La détermination du nombre d'UFC/g a été effectuée suivant la formule citée en haut.

7. Test de résistance de la souche probiotique de *Lactiplantibacillus plantarum* à la température de granulation de l'aliment de volaille

En se référant au process de fabrication de l'aliment de volaille (CAA, El Kseur), la dernière étape consiste en une granulation du mélange à une température de 80°C/10-15 min en fonction de la quantité chargée dans la granuleuse. Donc afin de vérifier la résistance de notre souche probiotique à cette étape du process de fabrication, un test de résistance à cette température a été réalisé. Pour cela, la souche (10^{10} UFC/mL) a été incorporée dans l'aliment et traitée dans un four Pasteur. A l'issue du traitement thermique un dénombrement a été réalisé dans la gélose MRS (pH= 5,4) après incubation à 37°C/72°C. En parallèle, une recherche de la souche a été effectuée en réalisant un enrichissement dans du bouillon MRS (37°C/24 h) puis un isolement en stries sur gélose MRS (37°C/72 h).

8. Isolement et purification des souches obtenues sur boîte

Les colonies obtenues sur milieux PCA et BEA, lors de l'analyse de l'aliment traité thermiquement, ont été récupérées et ont subis une série d'isolement et de repiquage pour obtenir des souches pures. Pour cela, un repiquage de colonies individuelles a été effectué dans du bouillon nutritif (BN, TM MEDIA, Inde). Par la suite, un réisolement a été réalisé sur la gélose nutritive (GN, Difco, France). Cette opération a été répétée plusieurs fois, en vérifiant à chaque fois l'aspect macroscopique (forme, taille et couleur de la colonie) et microscopique (forme, Gram et regroupement des cellules) de la souche.

9. Test de viabilité des souches isolées

Deux souches codées B1 (isolée sur milieu PCA) et E1 (isolée sur milieu BEA) ont été récupérées et testées pour leur viabilité dans les conditions simulées du transit gastro-intestinal.

9.1. Dénombrement des souches avant utilisation

Un dénombrement de la culture bactérienne fraîche de 18 h a été réalisé pour les deux souches isolées (B1 et E1). Pour cela, une série de sept dilutions décimales a été effectuée pour chaque souche.

Un volume de 1 mL de la culture bactérienne a été introduit dans le premier tube contenant 9 mL d'eau physiologique stérile, ce qui constitue la dilution (10^{-1}), puis à partir de ce dernier un autre 1 mL a été transféré dans un deuxième tube d'eau physiologique (9 mL) ce qui donne la dilution (10^{-2}), ainsi de suite jusqu'à la dilution (10^{-7}). Enfin, 1 mL des dilutions (10^{-6}) et (10^{-7}) a étéensemencé en masse dans la GN et incubé à 37°C/24 h. La détermination du nombre d'UFC/g a été effectuée suivant la formule citée en haut.

9.2. Résistance à l'acidité gastrique

Afin de tester la résistance des deux souches isolées (B1 et E1) au pH stomacale acide, un tampon HCl-KCl a été préparé puis 1 mL de chaque culture bactérienne fraîche de 18 h a été introduit dans un tube qui contient 9 mL de ce dernier et incubé 37°C/3 h.

Six tubes d'eau physiologique ont été préparés pour réaliser une série de dilutions allant jusqu'à (10^{-6}), puis 1 mL des dilutions (10^{-4}) et (10^{-5}) pour la souche B1 et (10^{-4}), (10^{-5}) et (10^{-6}) pour la souche E1 a étéensemencé en masse dans la GN. Après 24 h d'incubation à 37°C, un dénombrement a été effectué et le taux de survie a été calculé selon la formule : (Ustunol et Gandhi, 2001) :

$$\text{Taux de survie } \% = \left(\frac{N\left(\frac{UFC}{mL}\right) \text{ à } t4h}{N\left(\frac{UFC}{mL}\right) \text{ à } t0h} \right) \times 100$$

9.3. Résistance aux sels biliaires

Pour tester la viabilité des deux souches isolées (B1 et E1) en présence des sels biliaires rencontrés lors du passage par l'intestin, un tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) à pH =8 a été préparé (0,8 g NaCl, 0,02 g KCl, 0,3 g sels biliaires, 0,02 g KH_2HPO_4 , 0,14 g Na_2HPO_4 et 100 mL eau distillée). Par la suite, 1 mL de chaque culture bactérienne fraîche de 18 h a été introduit à l'aide d'une micropipette dans 9 mL du tampon PBS puis incubé 30°C/4h.

Une série de dilutions décimales allant jusqu'à (10^{-7}) a été préparée, puis 1 mL des dilutions (10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7}) pour la souche B1 et (10^{-6} et 10^{-7}) pour la souche E1 a été ensemencé en masse dans la GN puis incubé à $37^{\circ}\text{C}/24$ h. Par la suite, un dénombrement des colonies a été réalisé et le taux de survie a été déterminé selon la formule suivante (Ustunol et Gandhi, 2001) :

$$\text{Taux de survie } \% = \left(\frac{N\left(\frac{\text{UFC}}{\text{mL}}\right) \text{ à } t4h}{N\left(\frac{\text{UFC}}{\text{mL}}\right) \text{ à } t0h} \right) \times 100$$

10. Etude de l'activité antibactérienne de B1 et E1

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des souches étudiées, un test de spots a été réalisé ; pour cela, deux souches pathogènes aviaires (*E. coli* et *Salmonella enterica* Typhimurium) ont été incluses comme souches cibles.

10.1. Revivification des souches pathogènes et standardisation des inocula

Les deux souches étant congelées à -80°C , une revivification est nécessaire pour les activer. Pour cela, chaque souche a été ensemencée dans 5 mL de BN et incubée à $37^{\circ}\text{C}/24$ h. Cette étape a été suivie d'un deuxième repiquage dans le même bouillon et une re-incubation à $37^{\circ}\text{C}/24$ h.

Au terme de la période d'incubation, un ensemencement en stries a été réalisé sur GN. Les boîtes de Petri sont par la suite incubées à $37^{\circ}\text{C}/72$ h. A l'issue de la période d'incubation, un repiquage de deux colonies est effectué dans du BN. Ce dernier a été incubé à $37^{\circ}\text{C}/18$ h. Au terme de la période d'incubation, un dénombrement de la souche a été effectué par ensemencement de 1 mL des dilutions 10^{-7} et 10^{-8} , en masse, dans de la GN. Les dilutions décimales ont été réalisées dans de l'eau physiologique stérile (9 g/L NaCl) en portant 1 mL de la culture bactérienne dans un tube de 9 mL d'eau physiologique (10^{-1}), puis à partir de ce dernier 1 mL a été transféré dans le deuxième tube de 9 mL d'eau physiologique (10^{-2}) et ainsi de suite jusqu'au 8^{ème} tube (10^{-8}). La détermination du nombre d'UFC/g a été effectuée suivant la formule citée en haut.

10.2. Test de spots

Le principe de cette méthode consiste en la mise en contact direct des souches bactériennes cibles et test sur milieu gélosé. Pour cela, 5 uL de la culture fraîche de 18 h de la souche test (B1 ou E1) ont étéensemencés en spots sur GN et incubés à 30°C/24 h. Après incubation, 1 mL de chaque souche pathogène a été inoculé dans des tubes contenant 9 mL de gélose Muller-Hinton (MH, Liofilchem, Italie) en surfusion. Chaque tubeensemencé a été versé dans les boîtes de Petri où se sont développés les spots des souches test. Après solidification, les boîtes ont été ré-incubées à 37°C/24 h. À l'issue de la période d'incubation, les boîtes ont été observées quant à l'apparition de zones claires autour des spots.

Résultat et discussions

1-Analyse de l'aliment

1-1- Dénombrement des flores totale et lactique

Les résultats du dénombrement des flores totale et lactique sur les géloses PCA et MRS sont consignés dans le tableau II.

Tableau II. Résultats du dénombrement des flores totale et lactique

Aliment	Démarrage	Croissance	Finition
Flore totale (UFC/g)	$2,3 \cdot 10^3$	10^4	$1,4 \cdot 10^2$
Flore lactique (UFC/g)	42	10^4	0

Nous constatons la présence d'une charge variable de flore totale dans les trois types d'aliment. Cette contamination peut provenir aussi bien de l'aliment que de l'environnement lors du prélèvement.

1-2- Recherche des entérocoques

La présence présomptive des entérocoques a été enregistrée au niveau des trois types d'aliment; un trouble a été observé dans les trois tubes de milieu de Roth avec présence d'un dépôt blanchâtre. Après le repiquage sur le milieu Eva-Litsky, un trouble du milieu a été observé pour les trois aliments ; ce qui confirme la présence des entérocoques. L'aspect macroscopique sur milieu BEA montre de petites colonies translucides entourées d'un halo-noir. Cet aspect est caractéristique des entérocoques.

Remarque : Les résultats obtenus sur les milieux précédents, indiquent la présence des flores lactique et totale ainsi que des entérocoques dans les trois types d'aliment (démarrage, croissance et finition), ce qui démontre que l'aliment récupéré n'est pas stérile. Donc à cette étape nous ne pouvons pas incorporer notre souche et la suivre tout au long de notre étude et pour cela un traitement thermique est indispensable pour stériliser l'aliment.

2- Analyse de l'aliment après traitement thermique

L'aliment a subi un traitement thermique de 90°C/20 min.

2-1 Dénombrement des flores totale et lactique et des levures et moisissures

Un dénombrement de la flore totale sur milieu PCA, flore lactique sur MRS et levures et moisissures sur YGC a permis l'obtention des résultats rassemblés dans le tableau III ci-dessous.

Tableau III. Résultats du dénombrement des flores totale et lactique et des levures et moisissures

Flore (UFC/g)	Flore totale	Flore lactique	Levures et moisissures
Aliment de démarrage	10 ⁴	0	0
Aliment de croissance	3,5 10 ³	0	0
Aliment de finition	6,5 10 ²	0	0

Les résultats indiquent la présence d'une flore totale allant de 6,5 10² UFC/g dans l'aliment de finition à 10⁴ UFC/g dans l'aliment de démarrage. Ceci indique la présence d'une flore thermorésistante. L'aspect macroscopique des colonies sur milieu PCA montre clairement la présence de *Bacillus*.

Ces bactéries sporulées présentent une très forte résistance aux traitements thermiques comme la pasteurisation (**Flint et al., 2015**). La sporulation est un phénomène naturel dans le cycle de croissance de certains groupes de bactéries telles que les espèces des *Bacillus* (**Ponce et al., 2008**), il intervient lorsque les conditions deviennent défavorables donc en situation de stress (**Baril et al., 2012**).

Par contre, aucune colonie n'a été obtenue sur milieu MRS et YGC, ce qui indiquent l'absence de la flore lactique et des levures et moisissures.

2-2 Recherche des entérocoques

Les résultats de la recherche des entérocoques indiquent leur présence dans les trois types d'aliment. Des colonies caractéristiques ont été obtenues sur milieu BEA.

Suivant les résultats obtenus il ressort que le traitement thermique à 90°C pendant 20 min a éliminé la flore lactique et les levures et moisissures dans les trois aliments. Par contre, les flores thermorésistantes (*Bacillus* et entérocoques) sont toujours présentes.

Les entérocoques appartiennent à la flore résidente gastro-intestinale de l'Homme, des autres mammifères, des oiseaux ..., ce sont des microorganismes ubiquitaires que l'on retrouve aussi dans les eaux et les végétaux, ils ont une particularité d'être résistants aux conditions environnementales (Chavres et al., 2003). Ils sont capables de résister au chauffage à 60°C pendant 30 min (Freny et al., 2007) et aux températures de pasteurisation et connus pour leur adaptabilité aux différents substrats et aux conditions de culture (basses et hautes températures, pH extrêmes et salinité) (Brumfitt et al., 1958).

3. Resistance de la souche probiotique de *Lactiplantibacillus plantarum* à la température de granulation de l'aliment de volaille

La souche de *Lactiplantibacillus plantarum* (10^{10} UFC/mL) incorporée dans l'aliment et traitée dans un four Pasteur à 60°C/10 min n'a montré aucune résistance à cette température. A l'issue du traitement thermique, le dénombrement et la recherche de la souche n'a montré la survie d'aucune cellule. Ceci démontre l'impossibilité d'incorporation de la souche probiotique, telle quelle, dans l'aliment de poulet de chair.

4- Isolement et standardisation des souches thermorésistantes

A partir des milieux PCA et BEA, des colonies caractéristiques de *Bacillus* et d'*Enterococcus* ont été prélevées et purifiées par une série de repiquages. Par la suite, une standardisation de leur *inoculum* a été effectuée pour la suite de l'étude. En effet, deux souches *Bacillus* B1 et *Enterococcus* E1 ont été sélectionnées pour leur caractérisation en tant que probiotiques. Les résultats de leur dénombrement après croissance de 24 h dans le bouillon nutritif sont consignés dans le tableau IV ci-dessous.

Tableau IV. Standardisation de l'*inoculum* des souches B1 et E1

Flore	Nombre de colonies repiquées	Nombre
<i>Bacillus</i>	2	$2,2 \cdot 10^8$ UFC/mL
<i>Enterococcus</i>	2	$4,4 \cdot 10^9$ UFC/mL

5- Viabilité sous les conditions simulées du tractus gastro-intestinal

La soumission des deux souches sélectionnées aux conditions simulées du tractus gastro-intestinal a révélé leur résistance (tableau V) au pH acide (pH=3) et aux sels biliaries (0,3 %, m/v).

Tableau V. Résultats du test de viabilité des souches B1 et E1

Souche	HCL pH 3	PBS pH 8+ 0,3% bile
B1	6,7.10 ⁵ UFC/mL	2,3.10 ⁸ UFC/mL
E1	6.10 ⁴ UFC/mL	4,5.10 ⁹ UFC/mL

En se référant aux résultats obtenus dans le tableau V, des pourcentages de viabilité ont été calculés comme suit :

$$\text{Viabilite (\%)} = (N_1/N_0) \times 100$$

N₀ : Nombre initial de cellules

N₁ : Nombre de cellules après le test

Les résultats sont indiqués dans le tableau VI.

Tableau VI. Taux de viabilité des souches B1 et E1 sous conditions gastro-intestinales simulées

Souche	HCL pH 3	PBS pH 8+ 0,3% bile
B1	0,3 %	100 %
E1	0,001 %	100 %

Les résultats de l'effet de l'acidité sur la survie de la souche de *Bacillus* montrent une résistance de cette souche au pH 3/ 3 h. Par contre, les sels biliaries (0,3 %) n'ont aucun effet sur elle. De même, la souche d'*Enterococcus* a montré une faible résistance au pH acide (0,001 %) mais une très bonne tolérance des sels biliaries (100%). La résistance à l'acidité de l'estomac et à la bile constitue les principaux critères de sélection des souches probiotiques.

La survie des bactéries dans le tube digestif dépend de leur capacité à tolérer les pH bas. Quelques auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 3 dans un milieu de culture pendant 3 heures (Ammor et Mayo, 2007).

La tolérance aux sels biliaires est aussi un facteur important pour la survie des probiotiques, car après leur échappement aux conditions acides de l'estomac, les probiotiques doivent faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum après ingestion de repas gras (Ammor et Mayo, 2007 ; Gu *et al.*, 2008).

Les entérocoques tolèrent de fortes concentrations en acides biliaires (jusqu'à 40 %) (Chavres *et al.*, 2003). Par contre, seulement deux espèces (*En. faecalis* et *En. faecium*) qui sont capables de résister à l'acidité stomacale (Deshpande *et al.*, 2007).

Un nombre important des souches de *Bacillus* présentaient des niveaux élevés de tolérance à la bile. Une légère perte en viabilité est enregistrée, la concentration physiologique (0,3 %) présente chez les monogastrique tels que le poulet et le porc (Kim *et al.*, 2007; Taheri *et al.*, 2009).

6- Activité antibactérienne des souches B1 et E1

L'activité antibactérienne a été évaluée à l'égard de deux souches de bactéries reconnues des agents pathogènes aviaires à savoir *E. coli* et *Salmonella enterica* Typhimurium. Pour cela un test de spots a été réalisé et les résultats obtenus ont révélé l'absence de tout antagonisme envers elles (figures 2 et 3).



Figure 2. Absence d'activité antibactérienne (test des spots) de la souche d'entérocoques à l'égard de deux souches pathogènes (*E. coli*, *Salmonella enterica*)



Figure 3. Absence d'activité antibactérienne (test des spots) de la souche de *Bacillus* à l'égard de deux souches pathogènes (*E. coli*, *Salmonella enterica*)

L'activité antibactérienne en présence des *Bacillus* et *Enterococcus* a été évaluée contre deux bactéries pathogènes ; *Salmonella enterica* Typhimurium, et *Escherichia coli*, par la méthode des spots décrite par **Fleming et al. (1975)**.

La principale fonction des probiotiques est d'inhiber les agents pathogènes, ce qui est un critère important pour le criblage de souches potentielles de probiotiques (**Guo et al., 2006**).

Certaines souches de *Bacillus* ont une gamme relativement large d'activités antibactériennes car les souches sont non seulement efficaces contre les bactéries Gram positives (*Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*), mais aussi contre les bactéries Gram négatives (*E. coli* et *Salmonella* Enteritidis) (**Petersson-Wolfe et al., 2008**). Des études antérieures ont rapporté que certaines souches de *Bacillus* pouvaient produire des bactériocines ou des substances de type bactériocine capables de tuer les agents pathogènes bactériens (**Sugita et al., 1998; Sutyak et al., 2008**). De même, des souches du genre *Enterococcus* ont de bonnes propriétés antimicrobiennes à l'égard des bactéries Gram positives et Gram négatives (**Belguesmia et al., 2010**).

Dans cette étude, aucune zone d'inhibition (figures 2 et 3) n'a été observée alors que comme rapportée en haut, plusieurs études ont montré l'inhibition des bactéries du genre *Salmonella* après l'utilisation de souches de *Bacillus* (**Maruta et al., 1996**), d'autres études ont aussi mis en évidence une diminution de la flore pathogène lorsque des souches de *Bacillus* sont utilisées dans l'aliment de poulet de chair (**Ragionne, 2001**).

Nos résultats négatifs pourraient être dus à la charge élevée des souches cibles, contre une faible charge des souches test (*Bacillus* et *Enterococcus*) ou bien à la souche testée (une seule souche testée/genre) qui ne produit pas de substances antibactériennes ou qui les produit mais à faible concentration. Une optimisation du test d'activité est nécessaire pour affirmer ou infirmer le résultat obtenu.

Conclusion générale

Conclusion

Ce travail avait pour objectif d'étudier la viabilité d'une souche probiotique de *Lactiplantibacillus plantarum*, sous certaines conditions contraignantes au cours de la fabrication d'un aliment de volaille. Pour cela, une visite guidée a été menée au niveau du complexe agroalimentaire (CAA) d'El Kseur (W. Bejaia) pour suivre le processus de fabrication d'un aliment destiné au poulet de chair. Suivant le processus appliqué, seule la température de granulation de l'aliment (80-90°C) semble représenter une contrainte quant à l'incorporation directe des souches probiotiques dans l'aliment. En effet, cette température a été destructrice de la souche probiotique de *Lactiplantibacillus plantarum* envisagée comme additif à l'aliment de poulet de chair. Cependant, suite à l'application d'un traitement thermique équivalent (90°C/ 20 min) sur l'aliment de poulet de chair, des isolats de *Bacillus* et d'*Enterococcus* ont été récupérés de l'aliment traité. Ces isolats ont été retenus pour déterminer leur pouvoir probiotique. Le premier critère testé est la résistance à l'acidité gastrique et les deux isolats ont montré une sensibilité au pH teste (pH=3) après 3 heures d'exposition. Par ailleurs, nous avons noté un fort potentiel des deux souches à résister à 0,3 % (m/m). L'étude de l'activité antibactérienne *in-vitro* des deux isolats a montré leur inefficacité à inhiber deux souches d'*E. Coli* et de *Salmonella enterica* Typhimurium.

Cette étude reste préliminaire et des tests complémentaires devraient être réalisés pour mieux caractériser ces nouvelles souches. Pour ce faire les tests suivants sont envisagés :

- Etude approfondie de l'activité antibactérienne des souches (conditions optimisées),
- Etude de certains critères probiotiques à savoir la non pathogénéicité et la cytotoxicité,
- Confirmation de l'appartenance des souches aux genres présumés et leur identification au niveau de l'espèce.
- Test de viabilité des souches incorporées à l'aliment de poulet de chair.

Références bibliographiques

A

Adrian Ponce., Stephanie A. Connon., Pun To Yung. (2008). Detection and Viability Assesment of Endospore Forming Pathogens. Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems. Springer Science+Business Media. p: 481-523.

Al Agawany, M., Abd El-Hack, M. E., Farag, M. R., Sachan, S., Karthik, K., & Dhama, K. (2018). The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(11), 10611–10618.

Al-Fatah, M. A. (2020). Probiotic modes of action and its effect on biochemical parameters and growth performance in poultry. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(1), 9–15.

Alloui, N. (2011). Situation actuelle et perspectives de modernisation de la filière avicole.

https://www.researchgate.net/publication/235678954_SITUATION_ACTUELLE_ET_PERSPECTIVES_DE_MODERNISATIONDE_LA_FILIERE_AVICOLE_EN_ALGERIE.

ANSEJ., (2010). Aviculture- Elevage de poulets de chair.fiche technique.

Ammor MS et Mayo B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as Functional starter cultures in dry sausage production. *Mea t. Science*.76, 138-146.

B

Baloul T., Bouzidya H., (2012). Contribution à l'étude hygiénique et sanitaire du poulet de chair en fonction de la durée de conservation et l'emballage, Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Biologie: Contrôle de la Qualité et Analyses, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2012, 30 p.

Barrow, P. A. (1992). Probiotics for chickens. *Probiotics*, 225–257.

Batonon D.I., (2014). Système d'alimentations alternatives pour le développement des filières volailles en régions chaudes. Doctorat Sciences de la vie, Université François – Rabelais De Tours Ecole Doctorale SSBCV, 2014, p.12.

Batonon D. I., Bouvarel I., Lescoat P., Roffidal L., ET Traineau. M., (2014). Capacity of laying hens in sequential feeding to adjust their feed consumption when offered previously a nutritionally unbalanced diet. *EuropeanPoultry Science*, doi:10.1399/eps.2014. p.37.

Behira B ., (2012) .Contribution à l'étude des espèces de lactobacilles à caractère probiotique isolées de la poule domestique (*Gallus gallusdomesticus*) de l'Ouest Algérien.

Thèse doctorat microbiologie alimentaire, université d'Oran, année 2012, p.11.

Belaid D.J ., (2015).L'élevage avicole en Algérie. Collection Dossier Agronomique. Site internet.

Belaid D.J ., (2016).Valorisation de l'orge et des triticales en alimentation volaille. Collection Brochures Agronomique .

Belguesmia Y, Choiset Y, Prévost H, Dalgalarondo M, Chobert JM, Drider D. Partial purification and characterization of the mode of action of enterocin S37: a bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* S37 isolated from poultry feces. *J Environ Public Health*. 2010;2010:1–8.

Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J ,Munoz-Quezada S, Gomez-Llorente C ,Gil A,2012.Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160–174.

Berradj N. et etBoucherk C. 2016. Utilisation Des Co-Produits Oléagineux dans L'alimentation Cunicole : Formulation A Partir Des Résultats de Recherches. Mémoire De Master. Université mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 67p

Blain J.C. 2002. Introduction A La Nutrition Des Animaux Domestiques. EM Inter : Edition Medicals International. Edition Tec Et Doc. Pp 32(4)-35(2)- 97(3)- 99(3). 424p

Bludgen A et Collaborateurs, 1996. Aviculture semi industrielle en climat subtropical, guide pratique, les presses agronomiques de Gembloux : 45-46, 47-48 p.

Brechet CH ., Delteill., Fournier .,(2013).L'alimentation des volailles.In : Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. Educagriéditions, troisième édition Leborgne M . Ardouin N. Dijon,(2013), pp.28-49.

Brumfitt, W. A. C. Wardlaw, and J. T. Park 1958. Development of lysozyme-resistance in *Micrococcus lysodieticus* and its association with an increased O-acetyl content of the cell wall. *Nature* **181**: 1783-1784

C

Carlin, F., Mafart, P., Sporulation boundaries and spore formation kinetics of *Bacillus* spp. as a function of temperature, pH and aw, *Food Microbiology* (2012),

Carvalho, I. T., & Santos, L. (2016). Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. *Environment International*, *94*, 736–757.

Celiberto L. S., Bedani R, Dejeni N. N., Ivo de Medeiros A, Sampaio Zuanon J. A., Spolidorio L. C., Tallarico Adorno M. A., et al. 2017. Effect of a probiotic beverage consumption (*Enterococcus faecium* CRL 183 and *Bifidobacterium longum* ATCC 15707) in rats with chemically induced colitis. *PLoS ONE* *12* (4). doi:10.1371/journal.pone.0175935.

Chaisatit, C., Tribuddharat, C., Pulsrikarn, C., & Dejsirilert, S. (2012). Molecular characterization of antibiotic-resistant bacteria in contaminated chicken meat sold at supermarkets in Bangkok, Thailand. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, *65*(6), 527–534

Chataigner B., Stevenus A ., (2002). Investigation sur la présence de résidus d’antibiotique dans les viandes commerciales à Dakar. Projet pacepa4-15.

Codex alimentarius., (2009) . Production animale, Deuxième édition, FAO/OMS, Rome.

Commission Union européenne IP/05/1687, Interdiction des antibiotiques comme facteurs de croissance dans les aliments pour animaux, Bruxelles, 22 décembre 2005.

D

Deng W., Dittoe D.K., Pavlidis H.O., Chaney W.E., Yang Y. & Ricke S.C. (2020). Current perspectives and potential of probiotics to limit foodborne *Campylobacter* in poultry. *Frontiers in Microbiology* *11*, 2989

Deshpande L.M., Fritsche T.R., Moet G.J., Biedenbach D.J., Jones R.N. 2007. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe : a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* *58*:163-170.

De Roissart H. & Luquet F.M. (1994). Bactéries Lactiques. Lorica. Chemin de Saint George F-38410 Uriage (2). 50-79. ISBN : 2-9507477-0-1.

Djamel B. Valorisation De L'orge Et Des Triticales En Alimentation de Volaille. Collection Brochures Agronomiques. 2016 .

Djezzar R., Benamirouche K., Baazize-Ammi D., Khoubai A., Merrouki A., Maghni E. &Guetarni D. (2013).Impact of dietary supplementation with *Pediococcus acidilactici* and sanitary performances of broilers in Algeria. Research Journal of Poultry Science 5 (4-6). <http://www.scopemed.org/?mno=32461> .

Djezzar, R., Benamirouche-Harbi, & K., Baazize-Ammi, D., Hezil, N., Gharbi, I., Kebbal, S., &Guetarni, N. S. E. D. (2019). Effects of adding 2 probiotics replacing antibiotics on the performances of broilers and their intestinal flora. *LivestockResearch for Rural Development*.

Dunne C L, Murphy L., Thornton G, Morrissey D., Halloran S. , Feeney M., Flynn S , G. Fitzgerald, C. Daly B, Shanahan F, Collins S, (2001). *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin : correlation with *in vivo* findings. *The American journal of clinical nutrition*, 73, , 386–392

E

Europe Union Commission. 2005. Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. Regulation 1831/2003/EU on additives for use in animal nutrition, replacing directive 70/524/EEC on additives in feed-stuffs, Brussels, 22 December.

F

FAO. 1990. Manuels Sur Le Contrôle De La Qualité Des Produits Alimentaires. Training In MycotoxinsAnalysis. F.A.O Rome.

FAO/OMS (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (Organisation Mondiale pour la Santé OMS). Working Group Report. London, Ontario, Canada.

FAO/OMS. 2004. Code d'Usages pour une Bonne Alimentation Animale (CAC/RCP 54-2004). Rome (disponible à l'adresse suivante: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10080/CXC_054_2004e.pdf)

FAO Manuel. 2013. Bonnes Pratiques Pour L'industrie De L'alimentation Animale. FAO Et IFIF.

FAO. 2018. Technique D'alimentation Des Lapins. Centre Cunicole De Recherche Et d'Informations (CECURI) De l'Université d'Abomey-Calavi Organisation Des Nations Unies Pour l'Alimentation Et l'Agriculture (FAO).

Flint S.H., Bremer P.J., Brooks J.D. (1997). Biofilms in dairy manufacturing plantdescription, current concerns and methods of control. Biofouling: *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*. **11**(1). p: 81-97.

Fleming H P, Etchells J L, Costilow R N. 1975. Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied microbiology*, 30(6):1040-1042.

Foulquié Moreno M. R., Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. 2006. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology* 106, 1–24.

Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P. 2007. Précis de Bactériologie Clinique. 2ème édition. Editions ESKA, éditions Alexandre Lacassagne, Paris, France.

Fuller R. (2001).The Chicken gut microflora and probiotic supplements. *Journal of Poultry Science* 38, 189-196. <https://doi.org/10.2141/jpsa.38.189>.

G

Gardiner G E, O'Sullivan E, Kelly J, Auty M A, Fitzgerald G F, Collins J K, Ross R P, Stanton C. 2000. Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Applied and Environmental Microbiology*.66: 2605– 2612.

Gaudreau H, Champagne CP, Remondetto G E, Bazinet L, Subirade M. 2013. Effect of catechins on the growth of oxygen-sensitive probiotic bacteria. *Food Research International*. 53, 751–757.

Gonzalez Ronquillo, M., & Angeles Hernandez, J. C. (2017). Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: Review of impact and analytical methods. *Review of Impact and Analytical Methods*, 72, 255–267.

Gibson et Reberfroid, 1995 probiotiques, prébiotiques, symbiotiques.

Goudoud , 1992 <http://dspace.univ-msila.dz:8080/xmlui/handle/123456789/8596>

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition : Dunod. Paris. 651p

Gu RX, Yang ZQ, Li ZH, Chen SL et Luo ZL. (2008). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from stool samples of longevous people in regions of Hotan, Xinjiang and Bama, Guangxi, China. *Anaerobe*.14, 313-317.

H

Haddad , 2009 <http://dspace.univ-msila.dz:8080/xmlui/handle/123456789/8596>

Harimurti S. & Hadisaputro W. (2015). Probiotics in Poultry. In: Liong MT. (eds.) Beneficial Microorganisms in Agriculture, Aquaculture and Other Areas. *Microbiology Monographs* 29. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23183-9_1.

Hervé J., Mathilde B., Léonie D., Fabrice M., Sophie P., Christel N., Anne U., Julie C., Célia B., Antoine R. 2015. Alimentation Des Volailles En Agriculture Biologique. La France. 68p.

Higgins J.P., Higgins S.E., Wolfenden A.D., Henderson S.N., Torres-Rodriguez A.,

Horáčková, Š., Plocková, M., & Demnerová, K. (2018). Importance of microbial defence systems to bile salts and mechanisms of serum cholesterol reduction. *Biotechnology Advances*, 36(3), 682–690.

Huart A;(2004). L'aviculture traditionnelle ou villageoise, Centre Agronomique Et Vétérinaire Tropical De Kinshasa(CAVTK) Eco Congo, 3, p2.

I

Jayaraman, S., Thangavel, G., Kurian, H., Mani, R., Mukkalil, R., &Chirakkal, H. (2013). *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Poultry Science*, 92(2), 370–374.

Jean-Blain , 2002<http://dspace.univ-msila.dz:8080/xmlui/handle/123456789/8596>

Jha, R., Das, R., Oak, S. & Mishra P. (2020). Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. *Animals* 10, 1863.

K

Khalique, A., Zeng, D., Shoaib, M., Wang, H., Qing, X., Rajput, D. S., Pan, K., & Ni, X. (2020). Probiotics mitigating subclinical necrotic enteritis (SNE) as potential alternatives to antibiotics in poultry. *AMB Express*, 10(1), 1–10.

Khan, R. U., &Naz, S. (2013). The applications of probiotics in poultry production. *World's Poultry Science Journal*, 69(3), 621–632.

L

Larbier M Et Leclercq B. 1992. *Nutrition Et Alimentation Des Volailles*. Ed : INRA. Paris. 355p.

Leclercq B., Lessire M., Guy G., Hallouis J M Et Conan L. Utilisation De La Graine De Colza En Aviculture. *Revue Bibliographique Et Résultats De Deux Essai. Inra Prod Anim.* 2 (2). (1989). 129-136p

Lessire M., Leclercq B Et Conan L. Variabilité De La Valeur Energétique De La Graine De Soja Traitée Pour Les Volailles. *Revue Bibliographique Et Résultats De Troix Essai. Inra Prod Anim.* 1 (4). (1988). 265-270p

Longpré J., Fairbrother J. M., Fravallo P., Arsenault J., LeBel P., Laplante B., Surprenant C., Massé D., Letellier A., 2016. Impact of mash feeding versus pellets on propionic/butyric acid levels and on total *Escherichia coli* load in the gastrointestinal tract of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 94:1053- 1063.

M

Mahmoudi N. 2001. Remontée des filières avicoles et maîtrise technologique en Algérie : Cas de complexe avicole chair de Corso. Thèse de magister. Sciences animales. Institut national agronomique. Alger. 227p.

Mathlouthi, N., Auclair, E., & Larbier, M. (2012). Effect of yeast cell wall on growth performances of broiler chicks. *Livestock Research for Rural Development*, 24(11).

Mathur, S., & Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *International Journal of Food*, 105(3), 281–295.

Mattila-Sandholm T, Myllärinen P, Crittenden R, Mogensen G, Fondén R, Saarela M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*. 12(2): 173-182.

Mehdi, Y., Létourneau-Montminy, M. P., Gaucher, M. Lou, Chorfi, Y., Suresh, G., Rouissi, T., Brar, S. K., Côté, C., Ramirez, A. A., & Godbout, S. (2018). Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. *Animal Nutrition*, 4(2), 170–178.

Mortazavian A M, Khosrokhvar R, Rastegar H, Mortazaei G R. 2010. Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic Doogh (Iranian fermented milk drink). *Italian Journal of Food Science*. 22: 98–102.

O

Odiene C., Jacqueroud M et Rouillé B. Les Graines De Tournesol Dans La Ration Des Ruminants. Collections Fiche Technique. Institut De L'élevage. 2016.

OUAREST A ;(2008). Le soja dans l'alimentation du poulet de chair aspects qualitatif et quantitatif, Mémoire de Magistère En Médecine Vétérinaire : Aviculture Et Pathologie Aviaire, Université Mentouri De Constantine,

R

RiazRajoka, M. S., Shi, J., Zhu, J., Shao, D., Huang, Q., Yang, H., & Jin, M. (2017). Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(1), 35–45.

Rouger A., Tresse O. & Zagorec M. (2017). Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics. *Microorganisms* 5(3), 50.

S

SánchezB ,Delgado S , Blanco-Míguez A , Lourenço A , Gueimonde M ,Margolles

A,2016. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol. Nutr. Food Res* , 61(1),160-240

Santini C., Baffoni L., Gaggia F., Granata M., Gasbarri R., Di Gioia D. & Biavati

B. (2010). Characterization of probiotic strains: An application as feed additives in poultry against *Campylobacter jejuni*. *International Journal of Food Microbiology* 141, 598- 5108. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.039>.

Sondergaard A k. 2005. Application of probiotics in food.in: *Bacteries lactiques et probiotiques*, ed Lavoisier

Suresh, G., Das, R. K., Kaur Brar, S., Rouissi, T., Avalos Ramirez, A., Chorfi, Y., & Godbout, S. (2017). Alternatives to antibiotics in poultry feed: molecular perspectives. *Critical Reviews in Microbiology*, 44(3), 318–335.

T

Thèse doctorat microbiologie alimentaire, université d’Oran, année 2012, p.11

Tufarelli V, Laudadio V, 2016 .An overview on the functional food concept: prospective applied researches in probiotic, probiotic and synbiotics. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 4 , 273-278.

Tripathi M K , Giri S K, 2014 . Probiotic Functional Foods survival of probiotic during processing and storage. *Journal of functional foods*, 9, 225-241.

U

Ustunol Z. et Gandhi H, (2001). Growth and viability of commercial Bifidobacterium spp in honey-sweetened skim milk, *Journal of Food Protection*, 64, 1775-1779.

V

Van Immerseel F., De Buck J., Haesebrouck F. & Ducatelle R. (2004). Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination of Salmonella. *Journal of Applied Microbiology* 97, 233-245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02294.x> .

Van Immerseel F., De Buck J., Haesebrouck F. & Ducatelle R. (2004). Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination of Salmonella. *Journal of Applied Microbiology* 97, 233-245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02294.x>

Vicente J.L. & Tellez G. (2010). Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on Salmonella Enteritidis in neonatal broilers. *Poultry Science* 89(2), 243- 247. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00436>.

Vinderola C G, Mocchiutti P, Reinheimer J A.2002. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *Journal of Dairy Science*. 85(4): 721-729.

Vinderola C G, Mocchiutti P, Reinheimer J A.2002. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *Journal of Dairy Science*. 85(4): 721-729.

W

Welden J. S., (2014). les antibiotiques et le poulet, GUIDE POUR LES PROFESSIONNELS DE LASANTE.

Z

Zaghari, M., Sarani, P., & Hajati, H. (2020). Comparison of two probiotic preparations on growth performance, intestinal microbiota, nutrient digestibility and cytokine gene expression in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 166–175.

Zaghari, M., Sarani, P., & Hajati, H. (2020). Comparison of two probiotic preparations on growth performance, intestinal microbiota, nutrient digestibility and cytokine gene expression in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 166–175.

Zhang, L., Zhang, L., Zhan, X., Zeng, X., Zhou, L., Cao, G., Chen, A., & Yang, C. (2016). Effects of dietary supplementation of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. *Journal of Animal Science and Biotechnology*.

Annexe

Milieu MRS.

- Peptone	
- Extrait de viande	8g
- Extrait de levure	4g
- Acétate de sodium	5g
- Phosphate bipotassique	2g
- Citrate d'ammonium	2g
- Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	0,2g
- Sulfate de manganèse, 4H ₂ O	0,05g
- Glucose	20g
- Tween	80 lml
- Eau distillée qsp	100ml
- pH 6,2	

Gélose nutritive.

- Peptone	10g
- Extrait de viande	5g
- Chlorure de Sodium	5g
- Gélose	15g
- pH=7,2. Autoclaver 20mn à 120°C	

Milieu PCA

- Tryptone	5g
- Extrait de levure	2,5g
- Glucose	12g
- PH a 25°C : 7± 0,2	

Résumé

Au cours de ce travail, une souche probiotique de *Lactiplantibacillus plantarum* a été testée quant à sa résistance à la température de granulation de l'aliment de volaille (90°C) et s'est avérée sensible. De ce fait ne peut être envisagée comme additif direct à l'aliment. En parallèle, une analyse microbiologique a été réalisée sur un aliment de poulet de chair récupéré du complexe agroalimentaire (CAA) d'El Kseur (W. Bejaia), un dénombrement des flores totale et lactique et une recherche d'*Enterococcus* ont été réalisés. La même analyse a été effectuée sur l'aliment traité thermiquement (90°C/20 min). Suite à cette dernière, deux isolats présumés appartenir aux deux genres *Enterococcus* et *Bacillus* respectivement, ont été purifiés et fait l'objet d'une étude sur leur résistance à l'acidité gastrique (pH=3/3 h) et aux sels biliaires (0,3 %/4 h) ainsi que sur leur activité antibactérienne à l'égard de deux espèces pathogènes aviaires à savoir *E. coli* et *Salmonella* Typhimurium. Les résultats obtenus ont montré la sensibilité des deux isolats à l'acidité gastrique et leur forte résistance aux sels biliaires. Le test d'activité antibactérienne n'a montré aucun effet inhibiteur des deux isolats sur les deux souches pathogènes testées.

Mots clés : Probiotique, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Enterococcus*, *Bacillus*, aliment de volaille.

Abstract

In the course of this work, a probiotic strain of *Lactiplantibacillus plantarum* was tested for resistance to the pelleting temperature of poultry feed (90°C) and found to be susceptible. Therefore, it cannot be considered as a direct additive to the feed. In parallel, a microbiological analysis was conducted on a broiler feed recovered from the agri-food complex (CAA) of El Kseur (W. Bejaia), a count of total and lactic flora and a search for *Enterococcus* were conducted. The same analysis was performed on the heat-treated food (90°C/20 min). Following the latter, two isolates presumed to belong to the two genera *Enterococcus* and *Bacillus* respectively, were purified and studied for their resistance to gastric acidity (pH=3/3 h) and bile salts (0.3%/4 h) as well as for their antibacterial activity towards two avian pathogenic species, namely *E. coli* and *Salmonella* Typhimurium. The results obtained showed the sensitivity of both isolates to gastric acidity and their strong resistance to bile salts. The antibacterial activity test showed no inhibitory effect of the two isolates on the two pathogenic strains tested.

Key words: Probiotic, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Enterococcus*, *Bacillus*, Poultry feed.