

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة - خميس مليانة
Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
Département de Sciences Biologiques



**Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème :

**L'utilisation des symbiotiques comme alternative
aux antibiotiques**

Présenté par :

EL-FOUL Sarah

ZERROUK Yousra

Devant le Jury :

Dr. Mostefa Sari	Présidente	MCB	(U.D.B Khemis Miliana)
Dr. Cartelo	Promotrice	MAA	(U.D.B Khemis Miliana)
Dr. Achek	Examineur	MCA	(U.D.B Khemis Miliana)

Année universitaire :

2021/2022

Remerciements

*Tous nos remerciements et toute notre gratitude vont à **Allah** le tout puissant*

qui nous a donné force, courage, volonté et patience

pour élaborer ce modeste travail.

*Nos sincères remerciements sont adressés à notre promotrice **Dr. Cartelo**,*

qui nous a guidé le long de ce travail et nous a fait part

de ses judicieux conseils

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer

*notre travail, **Dr. Mostefa Sari** en tant que présidente du jury*

*et **Dr. Achek** d'avoir pris de son temps pour examiner ce travail.*

Nos remerciements vont également à tout le corps enseignant de la faculté des

Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Khemis Miliana.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces :

Grâce à dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A ma très chère Mémé l'être le plus cher à mon cœur

que dieu ait son âme,

Cela fait près de 4 ans que tu n'es plus de ce monde mais ta présence est restée dans mon cœur. Merci pour ta tendresse, ton amour et tes prières qui n'ont jamais cessés de m'accompagner. Que ce travail soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir toi qui souhaitais tant me voir faire partie de ce secteur.

A ma très chère Mère l'être qui compte le plus à mes yeux,

Aucun mot ne saurait exprimer ma gratitude et mon éternelle reconnaissance ton soutien, ton dévouement et tes sacrifices à mon égard. Tu es ma source d'inspiration, mon modèle et la raison qui m'incite à me surpasser chaque jour. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

A ma chère sœur Selma,

Ma petite sœur adorée, la complicité entre nous a fait de toi ma meilleure amie, merci d'être toujours à mes côtés, de m'épauler et me soutenir. Que dieu te protège et exauce mes vœux de succès et de réussite pour toi.

A mon cher frère Sid-Ali,

Cher grand frère, merci pour ta bienveillance, tes encouragements et ton soutien. Que dieu te protège et te guide dans ton nouveau chemin.

Une spéciale dédicace à mes oncles Youcef et Fateh et mon petit cousin Oussama,

Mes chers oncles, merci d'être toujours là pour moi, de m'encourager et de me soutenir. Que le tout puissant vous garde près de moi en bonne santé.

Cher Oussama, pour tout l'amour que j'ai pour toi, puisse dieu te donner joie, bonheur et santé.

A mes chères amies, Manel, Khalida, Roumaissa, Hadjer et Rihab, merci pour tous les moments passés ensemble. Plus spécialement à ma chère Yousra, merci d'être restée à mes côtés et d'avoir partagé tous ces moments pendant 5 ans. Que notre amitié dure le plus longtemps.

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

EL-FOUL Sarah

Dédicaces :

Du profond de mon cœur, je dédie ce mémoire à tous ceux qui me sont chers.

Ames parents,

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

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

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Ames grands-parents,

Mon grand-père رحمه الله, ma grand-mère qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

À toute ma famille, mes tantes mes oncle, mes cousins.

A mon amie Sarah,

Tu es toujours là pour moi. Une présence chaleureuse, bienveillante, qui sait me faire du bien. Tu me connais mieux que quiconque et c'est réciproque, du moins je l'espère. C'est toi qui mérite le mieux à mes yeux le titre de "meilleure amie."

A tous ceux que j'aime.

ZERROUK Yousra

Résumé :

L'utilisation abusive des antibiotiques comme facteurs de croissance dans le secteur avicole à compter des années cinquante a favorisé l'apparition de nouvelles souches multi-résistantes à grande échelle. Il est donc devenu obligatoire de chercher des alternatives. Parmi ces alternatives, les symbiotiques ont suscité beaucoup d'intérêt. Dans l'objectif de démontrer leurs efficacités, une étude a été faite par une équipe de recherche de l'ENSV dans des conditions locales sur 3080 poussins des souches ARBOR ARCES, répartis en lots témoin et expérimental contenant 1540 sujets chacun, durant une période de 63 jours. L'étude s'est portée sur l'évaluation de l'impact d'un apport en symbiotique sur la flore digestive, l'antibiorésistance des souches *Escherichia coli* ainsi que la qualité sanitaire de la viande. Les résultats montrent que l'apport en symbiotique n'a pas réduit le nombre des coliformes totaux et fécaux ni le nombre des *Escherichia coli* au sein du lot supplémenté comparé aux poulets témoins ni amélioré l'antibiorésistance de *Escherichia coli*. Toutefois, au niveau de la viande, une baisse des bactéries de la flore aérobie mésophile totale FAMT est relevée suite à cette addition en symbiotique. Ces résultats méritent d'autres essais expérimentaux dans des conditions plus adéquates pour mieux percevoir les effets des symbiotiques et de prouver leurs prouesses attendues.

Mots clés : antibiotiques, alternatives, symbiotiques, addition, flore digestive, antibiorésistance, qualité de la viande, *Escherichia coli*.

Abstract:

The extensive use of antibiotic growth promoters in the poultry sector, from the 1950s, allowed the large scale of new multi-resistant strains. Thus, looking for alternatives became a necessity, and among them, symbiotics turned out to be interesting. In the aim to demonstrate their efficacy, a study was made, under local conditions on 3080 broilers ARBOR ARCES strain which are divided into control and experimental groups each contains 1540 subjects, during 63 days. The study focused on the evaluation of the impact of a symbiotic contribution on digestive flora, antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains and the sanitary quality of meat. The results indicate that the contribution of symbiotics didn't reduce the number of total and fecal coliforms neither the number of *Escherichia coli* nor improved the antibiotic resistance of *Escherichia coli*. However, adding symbiotic has reduced the number of bacteria in the FAMT meat. The results deserve further experimental tests under more suitable conditions to better understand the effects of symbiotics and also to prove its expected prowess.

Key words: antibiotic, alternative, symbiotics, addition, digestive flora, antibiotic resistance, meat quality, *Escherichia coli*.

ملخص:

أدى الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية كعامل نمو في ميدان الدواجن بشكل كبير إلى ظهور سلالات جديدة متعددة المقاومة منذ خمسينيات القرن الماضي. فأصبح من الضروري البحث عن البدائل ومن بينهم المكملات الغذائية (سيمبيوتيك) أثارت الكثير من الاهتمام. بهدف إثبات نجاعتها، تم إجراء دراسة تحت ظروف محلية على 3080 ككتوت من سلالة اربور اريسيس مقسمة إلى مجموعتين، مجموعة للمقارنة ومجموعة تجريبية، تحتوي كل واحدة على 1540 فردا، و ذلك لمدة 63 يوما. ركزت الدراسة على تقييم تأثير إضافة السيمبيوتيك على بكتيريا الجهاز الهضمي، مقاومة المضادات الحيوية من السلالات القولونية و كذلك الجودة الصحية للحم. أظهرت النتائج أن بعد إضافة السيمبيوتيك ، لم يتم التقليل من عدد الكوليفورم الكلي و البرازي و لا العصيات القولونية و لا بتحسين مقاومة المضادات الحيوية. و مع ذلك تم تسجيل انخفاض عدد بكتيريا (فامت) بعد هذه الإضافة. تستحق هذه النتائج اختبارات تجريبية أخرى في ظروف ملائمة أكثر لكشف آثار السيمبيوتيك و إثبات براعته المنتظرة.

الكلمات المفتاحية: مضادات حيوية، بدائل، سيمبيوتيك، إضافة، ميكروفلورا، مقاومة المضادات الحيوية، نوعية الحوم.

Symboles et abréviations :

Unités de mesure :

°C : Degré Celsius

% : Pourcentage

µm, mm, cm, m : micromètre, millimètre, centimètre, mètre

cm², m² : centimètre carré, mètre carré

mg, g : milligramme, gramme

ml, l : millilitre, litre

min, h, j : minute, heure, jour

kDa : kilodalton

Autres symboles et abréviations :

< : Inférieur

> : Supérieur

pH : potentiel d'Hydrogène

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ATBs : Antibiotiques

AGCC : Acides Gras à Courte Chaîne

ARF : Antibiotiques Régulateurs de Flore

AGP : Antibiotic Growth Promoters

GRAS : Generally Regarded As Safe

PCR: Polymerase Chain Reaction

F6PPK: Fructose-6-phosphoketolase

IC : Indice de Consommation

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

FAO : Food and Agriculture Organization

ISAPP : International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

NCCL: National Committee for Clinical Laboratory Standard

WHO: World Helth Organization

MICI: Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

TIA :Toxi Infection Alimentaire

ECEH : E. coli Entérohémorragiques

APEC :AvianPathogenic E. coli

FOS : Fructooligosaccharides

XOS :Xylooligosaccharides
TOS :Transgalactooligosaccharide
IMO : Isomaltooligosaccharides
PGIYRP: Peptidoglycane Recognition Protein
TNF α : Tumor Necrosis Factor α
MAPK:Mitogen Activated Protein Kinase
PI3K: Phosphatidylinositol-3-kinases
LPS :LipoPolySaccharides.
GLP-1: Glucagon-Like Peptide-1
GIP :Glucose-dépend Insulinotropic Peptide
 β – lactamine : Beta Lactamine
BN : Bouillon Nutritif
EPT : Eau Peptonée Tamponée
SFB : Sélénite F broth
TSI : Triple Sugar Iron
BLSE : β lactamases à spectre étendu
VRBL : gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge phénol
VRBG : gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre
TBX : Tryptophane x glucuronide
PCA : Plate Count Agar
FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale
UFC : Unité Formant Colonie

Liste des tableaux

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le microbiote intestinal

Tableau 1.1 : pH des différents compartiments du tube digestif.....	6
--	---

Chapitre II : Les antibiotiques

Tableau 2.1 : Principaux antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire.....	12
--	----

Chapitre III : Les symbiotiques

Tableau 3.1 : Principaux critères de sélection des probiotiques.....	22
---	----

Tableau 3.2 : Classification des colicines et leurs cibles cellulaires.....	31
--	----

Tableau 3.3 : Les microcines découvertes.....	32
--	----

Tableau 3.4 : Les prébiotiques, leurs structures et leurs sources.....	38
---	----

Tableau 3.5 : Contenu (en % : P/P) en fibres prébiotiques de quelques végétaux à consommation courante.....	46
--	----

Etude expérimentale

Matériels et Méthodes

Tableau 1 : Les valeurs des paramètres mesurées dans l'aire de vie.....	62
--	----

Tableau 2 : Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai.....	62
---	----

Tableau 3 : Composition et caractéristiques des aliments utilisés durant l'essai.....	63
--	----

Tableau 4 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.....	73
---	----

Tableau 5 : Application des disques d'antibiotiques par boîte de Pétri.....	74
--	----

Résultats et Discussion

Tableau 6 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches <i>E. coli</i> isolées.....	86
---	----

Tableau 7 : Pourcentages de multirésistances des souches <i>E. coli</i> aux antibiotiques (lot témoin).....	92
--	----

Tableau 8 : Pourcentages des multirésistances des souches <i>E. coli</i> (lot expérimental).....	94
---	----

Tableau 9 : Principaux antibiotypes d' <i>E. coli</i> isolés à partir du lot témoin	95
--	----

Tableau 10 : Principaux antibiotypes isolés à partir du lot expérimental.....	96
--	----

Tableau 11 : Nombre de coliformes (totaux et fécaux) ainsi que les <i>E. coli</i> dénombré au niveau des fientes à J45, chez les poulets témoins (lot témoin) et ceux supplémentés en symbiotique (lot expérimental).....	98
--	----

Tableau 12 : Nombre de colonies représentant la FAMT mesuré au niveau du bréchet à J45, pour les poulets témoins (lot témoin) et ceux supplémentés (lot expérimental).....	100
---	-----

Liste des figures

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le microbiote intestinal

Figure 1.1 : L'appareil digestif du poulet.....	5
--	---

Chapitre II : Les antibiotiques

Figure 2.1 : Illustration de l'écosystème de l'antibiorésistance.....	17
--	----

Figure 2.2 : Transmission de l'antibiorésistance de l'animal à l'humain.....	18
---	----

Chapitre III : Les symbiotiques

Figure 3.1 : <i>Lactobacillus acidophilus</i>	28
--	----

Figure 3.2 : <i>Streptococcus thermophilus</i>	28
---	----

Figure 3.3 : <i>Enterococcus faecalis</i>	28
--	----

Figure 3.4 : <i>Leuconostoc citreum</i>	28
--	----

Figure 3.5 : <i>Pediococcus</i>	28
--	----

Figure 3.6 : <i>Bifidobacterium bifidum</i>	28
--	----

Figure 3.7 : <i>Saccharomyces boulardii</i>	28
--	----

Figure 3.8 : Mécanismes d'action proposés des probiotiques dans le traitement des infections entériques.....	29
---	----

Figure 3.9 : Illustration d'un grain de blé.....	44
---	----

Figure 3.10 : Variétés de chicorée.....	45
--	----

Figure 3.11 : Illustration des effets de biscuits contenant des prébiotiques sur les bactéries prédominantes de la microflore intestinale.....	50
---	----

Figure 3.12 : Modification de la flore intestinale après ingestion d'alimentation hyperlipidique et mécanismes associés au développement de l'inflammation du diabète et de l'obésité.....	51
---	----

Figure 3.13 : Modification de la flore intestinale par les prébiotiques et effets physiologiques.....	52
--	----

Figure 3.14 : Mesure de l'incidence de la DA après ingestion de prébiotiques.....	54
--	----

Figure 3.15 : Hypothèse sur les effets potentiels des prébiotiques.....	55
--	----

Etude expérimentale

Matériels et Méthodes

Figure 1 : Vue intérieure du bâtiment avec la séparation des deux lots.....	60
--	----

Figure 2 : Vue extérieure du bâtiment.....	61
---	----

Figure 3 : Prélèvement du foie par écouvillonnage.....	64
---	----

Figure 4 : Aspect des colonies <i>E. coli</i> sur gélose Hektoen.....	68
--	----

Figure 5 : Tubes de milieu TSI.....	70
--	----

Figure 6 : Galerie API20 E après incubation et ajout des réactifs.....	72
Figure 7 : Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie.....	75
Figure 8 : Test de synergie positif (en bouchon de champagne).....	76
Figure 9 : Schéma de confirmation des BLSE par le test de double disque.....	76
Figure 10 : Pesée des fientes après prélèvement.....	77
Figure 11 : Prélèvement de la viande au niveau du bréchet.....	78
Figure 12 : Préparation des dilutions.....	80
Figure 13 : Ensemencement des coliformes sur gélose VRBL, VRBG et TBX.....	81
Figure 14 : Ensemencement de la FAMT sur gélose PCA.....	81
Figure 15 : Dénombrement sous le compteur de colonies.....	82

Résultats et Discussion

Figure 16 : Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin.....	84
Figure 17 : Pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental.....	84
Figure 18 : Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin.....	85
Figure 19 : Pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental.....	85
Figure 20 : Pourcentages des résistances des souches E. coli entre le lot témoin et le lot expérimental.....	86
Figure 21 : Pourcentages des multirésistances des souches E. coli pour le lot témoin.....	93
Figure 22 : Pourcentages des multirésistances des souches E. coli pour le lot expérimental.....	94
Figure 23 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur la flore coliforme à J45.....	98
Figure 24 : Effet du symbiotique sur la flore aérobie mésophile totale à J45.....	100

Table des matières :

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Symboles et abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....2

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le microbiote intestinal

1. Le microbiote intestinal chez la volaille.....4
2. Le tube digestif chez la volaille.....4
3. La flore digestive du poulet et sa localisation dans le tractus.....6
4. Les maladies et les pathogènes entériques de la volaille.....7
 - a- *Escherichia coli*.....8
 - b- *Salmonella*.....8
5. Contrôle des infections chez les volailles.....9

Chapitre II : Les antibiotiques

1. Définition des antibiotiques..... 11
2. Classification des antibiotiques.....11
 - a- Selon l'origine..... 11
 - b- Selon la nature chimique.....11
3. Caractéristiques des antibiotiques.....11
4. Les principaux antibiotiques utilisés.....11
5. Modalité d'utilisation des antibiotiques.....14
 - a- Antibiothérapie.....14
 - b- Métaphylaxie..... 15
 - c- Antibiofilaxie..... 15
 - d- Facteurs de croissance..... 15
6. L'antibiorésistance.....15
 - 6.1. Les types de résistance.....16
 - a- Résistance naturelle.....16
 - b- Résistance acquise.....16
 - c- Autres résistances : croisée/associée.....16
 - 6.2. Support de la résistance.....16

a- Chromosomique.....	16
b- Extra-chromosomique.....	17
6.3. Causes de l'antibiorésistance.....	17
a- En médecine humaine.....	17
b- En médecine vétérinaire.....	17
6.4. Mécanismes biochimiques de la résistance.....	19
7. Les alternatives aux antibiotiques.....	19
a- Les enzymes.....	19
b- Les huiles essentielles.....	19
c- Les extraits de plantes.....	19
d- Phagothérapie (microbe vs microbe).....	20

Chapitre III : Les symbiotiques

1. Définition des symbiotiques.....	21
1.1. Les probiotiques.....	21
1.1.1. Définition des probiotiques.....	21
1.1.2. Critères de sélection des probiotiques.....	21
1.1.3. Les microorganismes probiotiques et leurs caractéristiques.....	24
a- Le genre <i>Lactobacillus</i>	24
b- Le genre <i>Streptococcus</i>	25
c- Le genre <i>Enterococcus</i>	25
d- Les genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	26
e- Les genres <i>Pediococcus</i>	26
f- Le genre <i>Bifidobacterium</i>	27
g- Les levures.....	27
1.1.4. Production de substances antimicrobiennes.....	29
a- Les colicines.....	31
b- Les microcines.....	31
1.1.5. Les effets bénéfiques attribués aux probiotiques.....	33
A- Chez l'homme.....	33
B- Chez l'animal.....	33
a- Efficacité sanitaire.....	33
b- Efficacité zootechnique.....	34
1.1.6. Cadres législatifs et réglementaires des probiotiques.....	34
1.2. Les prébiotiques.....	35
1.2.1. Définition des prébiotiques.....	35

1.2.2. Critères de sélection des prébiotiques.....	35
a- L'indigestibilité.....	36
b- La fermentescibilité	36
c- La modification de la microflore intestinale en améliorant sa composition.....	36
1.2.3. Dose et sécurité.....	37
1.2.4. Classification des prébiotiques.....	39
A- Les hexoses.....	39
B- Les disaccharides naturels.....	39
C- Les oligosaccharides.....	39
a- Les prébiotiques connus.....	40
b- Les prébiotiques émergents.....	42
1.2.5. Mécanismes d'action des prébiotiques.....	46
A- Les effets indirects des prébiotiques sur l'organisme.....	46
B- Les effets directs des prébiotiques sur l'organisme.....	47
a- La modulation du microbiote.....	47
b- L'interaction avec les cellules épithéliales.....	47
c- L'interaction avec les cellules du système immunitaire.....	48
1.2.6. Les effets bénéfiques des prébiotiques.....	49
A- L'impact des prébiotiques sur la flore intestinale.....	49
B- La prévention du cancer.....	52
C- Les prébiotiques en tant que stratégie de traitement et de prévention des allergies.....	53
a- Chez l'homme.....	53
b- Chez l'animal.....	54
D- La stimulation de l'absorption des minéraux et oligoéléments.....	56
E- La propriété immunomodulatrice des prébiotiques.....	56
a- Encéphalopathie hépatique.....	56
b- Traitement de la dermatite atopique par prébiotiques et symbiotiques.....	56
1.2.7. Aspects réglementaires.....	56

Etude expérimentale

Introduction et objectifs.....	59
--------------------------------	----

Matériels et Méthodes

I. Elevage.....	60
-----------------	----

1.	Lieu, durée et période de l'étude.....	63
2.	Animaux.....	63
3.	Bâtiment.....	60
4.	Conduite d'élevage.....	61
5.	Equipements d'élevage.....	62
6.	Programme sanitaire d'élevage.....	62
II.	Aliment.....	63
III.	Modalité de supplémentation en symbiotique.....	63
IV.	Traitements expérimentaux.....	64
V.	Les paramètres étudiés.....	64
V.1.	Analyses bactériologiques.....	64
	V.1.1. Echantillonnage et prélèvement.....	64
	V.1.2. Les milieux de culture.....	64
	V.1.3. les produits de laboratoire.....	65
	V.1.4. Conduite expérimentale.....	66
	V.1.5. Bactériologie.....	67
	V.1.5.1. Isolement des <i>E. coli</i>	67
	a- Enrichissement.....	67
	b- Inoculation.....	67
	V.1.5.2. Isolement des <i>Salmonelles</i>	67
	a- Pré-enrichissement.....	67
	b- Enrichissement.....	67
	c- Inoculation.....	67
	V.1.5.3. Identification des bactéries.....	67
	V.1.5.3.1. Identification morphologique.....	67
	a- Pour les <i>Escherichia coli</i>	67
	b- Pour les <i>Salmonelles</i>	68
	V.1.5.3.2. Identification biochimique.....	68
	a- Test de la catalase.....	68
	b- Test oxydase.....	68
	c- Test des trois sucres.....	69
	d- Test uréase.....	70
	e- Test de l'indole.....	70
	V.1.5.3.3. Identification biochimique par galerie API20E.....	70
	A- Mode opératoire.....	71

a-	Préparation de la galerie.....	71
b-	Préparation de l'inoculum.....	71
c-	Inoculation de la galerie.....	71
B-	Lecture de la galerie.....	71
C-	Interprétation de la galerie.....	72
V.1.5.4.	Antibiogramme.....	72
A-	Principe.....	73
B-	Technique.....	73
a-	Inoculum.....	73
b-	Ensemencement.....	73
c-	Application des disques d'antibiotiques.....	74
C-	Lecture.....	74
V.1.5.5.	Etude BLSE.....	74
a-	Définition des bactéries BLSE.....	74
b-	Techniques microbiologiques.....	75
V.1.5.5.1.	Test de synergie.....	75
a-	Technique.....	75
b-	Lecture.....	75
V.1.5.5.2.	Test du double disque.....	76
a-	Technique.....	76
b-	Lecture.....	77
V.2.	Dénombrement bactérien.....	77
V.2.1.	Les prélèvements effectués.....	77
a-	Prélèvement des fientes.....	77
b-	Prélèvement de la viande.....	77
V.2.2.	Les germes dénombrés.....	78
V.2.3.	Les milieux de culture utilisés.....	79
a-	Milieu utilisé pour le dénombrement des coliformes.....	79
b-	Milieu utilisé pour le dénombrement de la FAMT.....	79
V.2.4.	Préparation des dilutions.....	79
V.2.5.	Ensemencement et incubation.....	80
V.2.6.	Dénombrement des colonies.....	81
a-	Dénombrement des coliformes.....	81
b-	Dénombrement de la FAMT.....	81
VI.	Analyses statistiques.....	82

Résultats et Discussion

I.	Bactériologie.....	83
I.1.	Isolement et identification des <i>E. coli</i>	83
I.1.1.	Lot témoin.....	83
I.1.2.	Lot expérimental.....	84
I.2.	Isolement et identification des <i>Salmonelles</i>	85
I.2.1.	Lot témoin.....	85
I.2.2.	Lot expérimental.....	85
I.3.	Antibiogramme.....	86
I.4.	Résistances individuelles par famille d'antibiotiques.....	87
I.4.1.	Les β -lactamines.....	87
I.4.2.	Les tétracyclines.....	88
I.4.3.	Les sulfamides.....	88
I.4.4.	Les quinolones.....	89
I.4.5.	Les aminosides.....	90
I.4.6.	Les polypeptides.....	90
I.4.7.	Les phénicoles.....	91
I.4.8.	Les furanes.....	91
I.5.	Les multirésistances.....	92
I.5.1.	Lot témoin.....	92
I.5.2.	Lot expérimental.....	93
I.6.	Les antibiotypes.....	95
I.6.1.	Lot témoin.....	95
I.6.2.	Lot expérimental.....	96
I.7.	L'étude BLSE.....	97
I.8.	Effet du symbiotique sur la flore coliforme intestinale.....	98
I.8.1.	Comparaison entre le lot témoin et le lot expérimental.....	98
I.8.2.	Comparaison entre les deux lots et la norme.....	99
I.9.	Effet du symbiotique sur la flore aérobique mésophile totale (FAMT).....	100
I.9.1.	Comparaison entre le témoin et le lot expérimental.....	100
I.9.2.	Comparaison entre les deux lots et la norme.....	101
	Conclusion et perspectives.....	103
	Références bibliographiques	
	Annexes	

Introduction

Générale

Introduction générale

L'utilisation des antibiotiques est devenue monnaie courante dans différents secteurs, autrement dit, dans la médecine humaine et la médecine vétérinaire. En effet, dès les années cinquante, l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance dans le domaine animal, en particulier dans la filière avicole, n'a cessé d'augmenter.

Effectivement, plusieurs études ont montré les prouesses que peuvent apporter cette utilisation en antibiotiques comme moyen subthérapeutique dans les élevages. Les résultats attendus étaient atteints par la stimulation de la croissance de ces animaux, l'amélioration des performances zootechniques ou bien encore la réduction du taux de mortalité et de morbidité (Ungemach *et al.*, 2006 et Aggad *et al.*, 2010).

Toutefois, il n'est pas sans savoir que cette utilisation a des répercussions sur l'animal en développant des antibiorésistances contre ces antibiotiques, ou alors sur l'homme en développant des réactions allergiques après consommation des aliments à base de volaille.

Constatant ces conséquences après utilisation abusive des antibiotiques comme promoteurs de croissance, une interdiction définitive de l'emploi de ces derniers est proclamée en 2006 par l'union européenne et l'Algérie.

Dans ce cas, les chercheurs se sont tournés vers d'autres alternatives pouvant remplacer les APG (Antibiotic Growth Promotor) en gardant les mêmes exploits obtenus tout en préservant la santé de l'animal, de l'homme et même l'environnement.

Parmi ces alternatives développées, les symbiotiques représentent une stratégie plus qu'intéressante. Ils désignent un mélange de probiotiques qui sont des microorganismes ingérés vivants en provoquant un effet positif sur la santé de l'hôte, et de prébiotiques qui sont les substrats énergétiques de ces probiotiques.

Pour cela, nous avons choisi que le présent travail se porte sur l'utilisation des symbiotiques comme alternative aux antibiotiques.

Le travail étant composé de deux parties, la première représente une partie bibliographique qui se compose elle-même de trois chapitres. Le premier est porté sur le microbiote intestinal chez la volaille en mettant le point sur les maladies et les pathogènes entériques. Dans le deuxième chapitre nous avons abordé le sujet des antibiotiques, l'antibiorésistance ainsi que les différentes alternatives de ces derniers. Enfin, le dernier chapitre est consacré aux symbiotiques.

Quant à la seconde partie du travail, elle représente une partie expérimentale dans laquelle est évalué l'impact de l'addition d'un symbiotique sur les antibiorésistances des souches *Escherichia coli*, la microflore digestive ainsi que la qualité sanitaire de la viande par une équipe de recherche de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger en 2017.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I : Le microbiote intestinal**1. Le microbiote intestinal chez la volaille :**

Le microbiote intestinal normal est défini comme étant un consortium complexe en équilibre de microorganismes habitant normalement le tractus gastro-intestinal et remplissant un rôle dans la nutrition, la physiologie et le fonctionnement du système immunitaire de l'hôte (Isolauri, Sutas et *al.*, 2001). Chez la poule, cet environnement gastro-intestinal est hautement diversifié englobant une large communauté de microorganismes de l'ordre de 900 espèces bactériennes des genres commensales, transitoires ou encore pathogènes (Gabriel *et al.*, 2005 ; Videnska et *al.*, 2013). Ces populations de microorganismes sont en équilibre relativement stable dans le tube digestif et contribuent à la digestion tout en jouant un rôle important pour la croissance et la santé de la poule (Gabriel et *al.*, 2003 ; Apajalahti et *al.*, 2004). Cet équilibre peut être rompu avec l'âge, les conditions d'hygiène, le stress ou à la suite d'une agression extérieure comme lors de l'utilisation d'antibiotiques ou de facteurs de croissance (Gabriel et *al.*, 2003).

2. Le tube digestif chez la volaille :

Le tractus gastro-intestinal présente quelques particularités anatomiques. En effet, contrairement à l'estomac des mammifères constitué d'une seule partie, celui des oiseaux comprend deux parties : d'abord le proventricule ayant un rôle chimique puis, le gésier ayant un rôle mécanique. Les différents organes constituant l'appareil digestif ont des actions spécifiques et interviennent successivement dans le processus de digestion à mesure que l'aliment transite le long du tractus gastro-intestinal (Larbier et Leclercq, 1992). Ainsi, l'appareil digestif est formé de :

La cavité buccale : dépourvue de dents et de lèvres, la préhension et la fragmentation des aliments sont assurées par le bec. Les aliments sont rassemblés pour former un bolus qui ne subit pas une insalivation mais seulement une lubrification en surface (Bouzouaia, 2019).

L'œsophage : tapissé de nombreuses glandes muqueuses qui complètent le rôle lubrifiant de la salive, il assure le transport des aliments de la cavité buccale à l'estomac (Bouzouaia, 2019).

Le jabot : une forme de réservoir en bas du cou constituant un élargissement de l'œsophage où les aliments subissent une humectation et se ramollissent. Il est le lieu d'une digestion microbienne par des Lactobacilles (Lan et *al.*, 2002).

Le proventricule : représente l'estomac sécrétoire, il est responsable de la digestion chimique par l'intervention du suc gastrique qu'il produit riche en acide chlorhydrique et de pepsine (Bouzouaia, 2019).

Le gésier : représente l'estomac mécanique, il est caractérisé par une couche superficielle très dure entourée de muscles puissants. Il peut contenir de petits graviers nécessaires aux animaux consommant des grains intacts. Donc, c'est au niveau du gésier et sous l'action de la pepsine que se produit véritablement la protéolyse (Gabriel et *al.*, 2005).

Le petit intestin : équipé de glandes sécrétrices, il se compose du duodénum, du jéjunum et de l'iléon (Bouchaib, 2017).

Le pancréas : très peu développé, il occupe l'espace entre les deux branches de l'anse duodénale. La sécrétion pancréatique augmente ou diminue en fonction des besoins et de la ration alimentaire (Rouissi, 2020).

Le gros intestin : peu développé chez l'oiseau, il est marqué par la présence des caeca où ont lieu les fermentations bactériennes et du rectum (Bouchaib, 2017).

Le caecum : structures paires sous forme de sac accolés à la partie terminale de l'iléon par un méso et débouchent dans l'intestin à la jonction de l'iléon et le rectum (Villate, 2001).

Le rectum : fait suite à l'iléon et débouche dans le cloaque et présente des villosités (comparables à ceux des mammifères) qui absorbent le liquide rectal et déshydratent les fientes (fèces et urines) (Villate, 2001).

Le cloaque : représente la partie terminale de l'intestin dans laquelle débouchent les conduits urinaires et génitaux. Il est formé de trois régions séparées par deux plis transversaux plus ou moins nets (le coprodéum, l'urodéum et le protodéum) (Almargot, 1982 ; Villate, 2001).

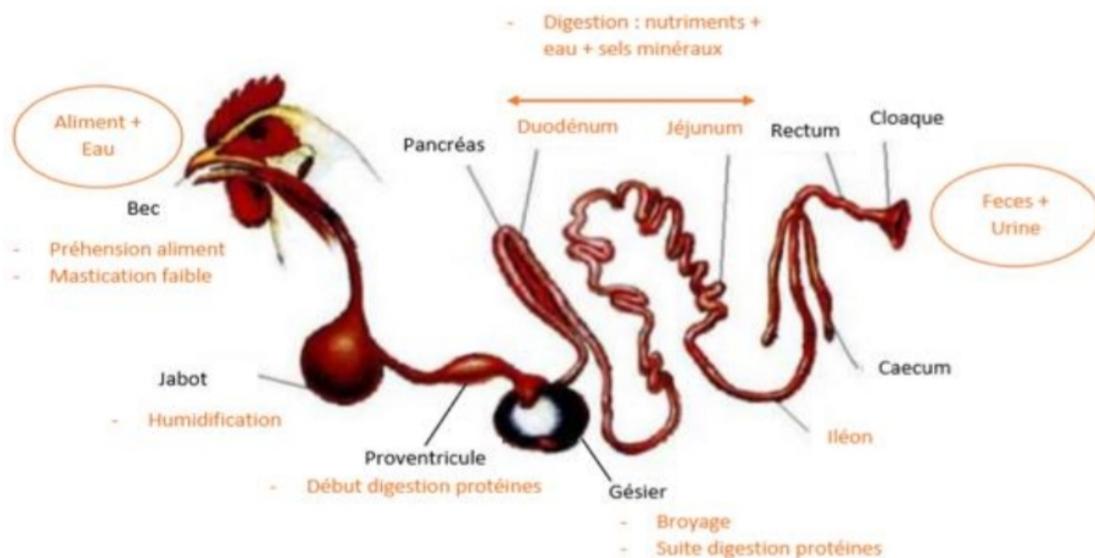


Figure 1.1 : L'appareil digestif du poulet (en noir nom du segment et en rouge les fonctions principales) (Rouissi, 2020).

Le pH dans les contenus digestifs diffère d'un compartiment à un autre commençant par un pH acide dans la zone gastrique à un pH presque neutre dans l'intestin. Le pH dépend de ses sécrétions digestives en plus de dépendre de la composition et de la forme de l'aliment.

Tableau 1.1: pH des différents compartiments du tube digestif des poulets en fonction de l'alimentation (Rouissi, 2020).

Compartiment	Régime à base de maïs, avoine et blé (Farner, 1943)	A jeun (Herpolet Van, 1964)	Farine (Engberg et al., 2002)	Granulé (Engberg et al., 2002)
Gésier	2,46-2,79	2,47-2,53	3,68	4
Duodénum	5,68-6,07	6,39-6,41	6,21	5,84
Jéjunum	5,72-6	6,58-6,62	6,17	6,05
Iléon	6,18-6,5	6,50-7,18	7,18	6,73
Rectum	6,08-6,58	6,98-7,02	6,47	5,97
Caeca	5,6-5,83	6,88-6,92	6,7	6,13

3. La flore digestive du poulet et sa localisation dans le tractus :

La flore digestive peut se trouver dans la lumière intestinale ou adhérer à la muqueuse digestive. La flore luminale dépend des nutriments disponibles, de la vitesse du transit et de la présence ou non de substances antimicrobiennes. La flore des muqueuses dépend de l'expression par l'hôte de sites d'adhésion spécifiques sur les membranes des entérocytes, de la vitesse de production de mucus, de la production d'anticorps (Ig) sécrétoires et de l'extrusion de matériel cellulaire de la membrane.

Chez le poulet, 29 genres bactériens ont été identifiés, chaque genre est représenté par 3 à 4 espèces et chaque espèce par 3 à 4 types métaboliques différents, ce qui ferait plus de 200 types différents, en sachant que seulement 25% des souches seraient identifiées (Fuller, 1984). Ainsi, le nombre total des cellules bactériennes est plus important que le nombre de cellules eucaryotes constituant le corps de l'hôte (Gabriel et al., 2005). Dans la partie supérieure du tube digestif, les bactéries anaérobies facultatives dominent, alors que les caeca hébergent surtout des bactéries anaérobies strictes. Cette microflore dépend de nombreux facteurs tels que l'individu, son âge, son environnement et son alimentation (Gabriel et al., 2005).

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

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

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

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

On retrouve dans l'iléon 10^8 à 10^9 bactéries par gramme de contenu. Une fois de plus les Lactobacilles sont les plus présentes allant de 10^7 à 10^9 bactéries par gramme de contenu frais. Une plus grande diversité est observée contrairement aux segments précédents avec notamment une concentration importante de bactéries anaérobies facultatives des genres *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus* mais aussi des bactéries anaérobies strictes telles que les *Clostridium* et les *Bacteroides* (Wise et Siragusa, 2006).

Les caeca possèdent l'environnement le plus riche en bactéries de tout le tube digestif allant de 10^8 à 10^{11} bactéries par gramme de contenu (Engberg *et al.*, 2004). Leur environnement est dépourvu d'Oxygène, on retrouve donc une flore anaérobie stricte dont les genres dominants sont les *Clostridium* allant de 10^8 à 10^{10} bactéries par gramme de contenu plus particulièrement des bactéries clusters IV et XIV (Apajalahti *et al.*, 2004). Mais également, d'autres genres tels que les *Bacteroides* (jusqu'à 10^9 bactéries par gramme) ainsi que *Escherichia* (jusqu'à 10^{10} bactéries par gramme) et *Lactobacillus* (jusqu'à 10^9 bactéries par gramme) qui sont aérotolérants (Mead, 1989 ; Wise et Siragusa, 2006).

4. Les maladies et les pathogènes entériques de la volaille :

Les volailles sont prédisposées à de nombreuses infections parasitaires, bactériennes, mycoplasmiques et virales particulièrement celles du système respiratoire et du système gastro-intestinal. Les maladies entériques à forte prévalence comme la cryptosporidiose ou la paratuberculose, conduisent à des pertes économiques élevées dans les élevages. De nombreuses espèces de *Salmonella* peuvent attaquer les oiseaux adultes et causer des taux élevés de mortalité et de morbidité. Une autre problématique liée à la présence de ces pathogènes dans le tube digestif est la contamination des denrées alimentaires provenant de la volaille. Les infections par *Welchia* sont responsables de l'entérite nécrosante. Les infections

infracliniques résultent dans des performances altérées et des lésions du foie. La maladie clinique aiguë entraîne une mortalité accrue (Chafai, 2006).

a- *Escherichia coli* :

Escherichia coli est une bactérie fréquente du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La plupart des souches d'*E. coli* sont sans danger. Cependant, certaines souches comme les souches entérohémorragiques (ECEH), peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires (TIA) graves. Son importance pour la santé publique est apparue en 1982, à la suite d'une flambée de TIA aux Etats-Unis. ECEH fabrique des toxines, connues sous le nom de verotoxines ou de toxines de type Shiga en raison de leur ressemblance avec les toxines élaborées par *Shigella dysenteriae*.

Les *Escherichia coli* aviaires, bien que considérés par beaucoup comme des pathogènes secondaires, représentent à l'heure actuelle l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur avicole. Les *Escherichia coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plus part des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre de celles-ci appelées « AvianPathogenic *E. coli* » ou APEC et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associées au syndrome de la colibacillose (Stordeur et Mainil, 2002). La principale voie d'entrée de l'agent pathogène est le tractus respiratoire, via l'inhalation de particules de poussières contaminées par les *E. coli* excrétées du tractus digestif d'animaux sains. En effet, les intestins sont le réservoir le plus important des *E. coli* pathogènes aviaires ou APEC. Après une première multiplication au niveau du tractus respiratoire supérieur, les bactéries colonisent les voies respiratoires profondes à savoir les sacs aériens et les poumons. Dans une troisième étape, la bactérie atteint le sang et colonise les organes internes comme le cœur, le foie et la rate (Jordan et Pattison, 1996).

Les colibacilloses sont sans doute les infections bactériennes les plus fréquentes et les plus importantes en pathologie aviaire. Elles peuvent entraîner de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir (Stordeur et Mainil, 2002).

Contrairement aux infections des mammifères, les colibacilloses aviaires prennent des formes générales, avec une voie d'entrée respiratoire ou génitale (Stordeur et Mainil, 2002). L'agent étiologique de la colibacillose est la bactérie *Escherichia coli*. Chez les oiseaux, les sérotypes considérés comme pathogènes sont 01 K1, 02K1 et O78K80 (Stordeur et Mainil, 2002 ; Mainil, 2003 ; Mainil et Van Bost, 2004).

b- *Salmonella* :

Plus de 60% des toxi-infections dans le monde sont dues à *Salmonella*. Les salmonelloses sont de ce fait, devenues un phénomène de santé publique ce qui justifie

l'implication de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans la lutte contre les salmonelloses (Salm-Surv, 2005).

Les salmonelloses appartiennent à la famille des entérobactéries, ce sont des bacilles mobiles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs, mésophiles qui se cultivent facilement. A nos jours, plus de 2300 sérotypes différents de salmonelles sont identifiés, sur le plan épidémiologique et sont classées en fonction de leur potentiel pathogène pour l'homme ou l'animal. La virulence des salmonelles est une notion complexe, résultant de nombreux facteurs encore largement étudiés, tant au niveau biochimique que génétique. Les principaux facteurs de virulence sont la mobilité (reposant sur les flagelles), l'adhésion par les pilis et les fimbriae (phénomène actif de reconnaissance spécifique entre une adhésine bactérienne et un ligand présent à la surface de la cellule hôte), la formation de phagosomes spacieux et la fusion avec les lysosomes (Feuillet, 2007).

Actuellement, plus de 200 sérotypes de salmonelles sont connus chez la volaille. *Salmonella* Enteritidis qui infecte les organes profonds (foie, rate, ovaire) est à l'origine d'infection durable au niveau des troupeaux alors que *Salmonella* Typhimurium est actuellement le sérotype le plus incriminé dans les salmonelloses aviaires provoquant les formes cliniques les plus graves, surtout chez les jeunes poussins prenant une allure septicémique, avec une mortalité brutale dans les jours qui suivent l'éclosion. On observe également de nombreuses mortalités en coquille. La première étape de colonisation par les salmonelles est une étape de colonisation intestinale. La bactérie arrive dans l'intestin grêle, où elle se multiplie en adhérant à l'épithélium, elle pénètre par un phénomène d'endocytose dans les cellules épithéliales iléales et caecales, notamment les tissus lymphoïdes incluant les plaques de Peyer, les amygdales caecales et dans les cellules M. Dans le cas des salmonelles provoquant des maladies systémiques, le site d'attachement préférentiel se situe au niveau des plaques de Peyer (Feuillet, 2007). L'infection est strictement limitée à la sphère digestive et peut correspondre à un portage latent avec élimination épisodique des Salmonelles dans les fèces.

5. Contrôle des infections chez les volailles :

Le recours aux antibiotiques demeure l'approche la plus préconisée pour lutter contre ces infections. Leur utilisation en alimentation animale a permis d'améliorer les conditions sanitaires des animaux et d'accroître la productivité des élevages en réduisant les coûts de production.

Cependant leur utilisation abusive de ces ATBs possédant beaucoup de similitudes avec ceux utilisés en médecine humaine a entraîné une augmentation inquiétante du nombre de souches pathogènes multi-résistantes. Cette situation a conduit l'Union européenne à décréter,

en 2006, l'interdiction complète des ATBs à titre de facteurs de croissance dans les aliments pour animaux dont l'une des premières espèces était la volaille, principale production à recourir à ce type d'additifs.

Il est donc clair que la recherche de solution alternative susceptible d'assurer une succession satisfaisante aux antibiotiques en termes d'effets zootechniques devient une urgence (Ben Abdallah, 2010).

De nombreuses alternatives ont été développées (Patel et Goyal, 2012 ; Almenu *et al.*, 2018) dont leur premier but est de maintenir un faible taux de mortalité, de bonnes performances de croissance pour l'élevage et ce, tout en préservant l'environnement. Parmi ces alternatives, les plus utilisées pour améliorer la santé gastro-intestinale sont les prébiotiques et les probiotique en d'autres termes, les symbiotiques (Medhi *et al.*, 2018).

Chapitre II : Les antibiotiques

1. Définition des antibiotiques :

Ce sont des substances naturelles produites par des microorganismes, ayant une activité sur des bactéries (ou d'autres microorganismes). Au sens large, on y inclut également les antibactériens de synthèse (produits par synthèse chimique). Leur importance est capitale dans la lutte contre les maladies infectieuses (AFSSA, 2006).

2. Classification des antibiotiques :

La classification des ATBs peut se faire d'après plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action ou bien le spectre d'action. Les plus couramment utilisés sont :

a- Selon l'origine :

Les antibiotiques sont élaborés par un organisme vivant ou produits par synthèse (Yala et *al.*, 2001).

b- Selon la nature chimique :

Elle est la plus utilisée et pour cause, la nature chimique permet de classer en « familles » ou « classes » (aminosides, macrolides, pénicilles, bêta-lactamines,...) les antibiotiques ayant des caractéristiques communes : structure, spectre d'activité, cible moléculaire bactérienne, sensibilité à des mécanismes de résistance et d'indications cliniques (Courvalin, 2008).

3. Caractéristiques des antibiotiques :

Les antibiotiques sont caractérisés par leurs :

- Activité antibactérienne (spectre d'action) ;
- Toxicité sélective (mode d'action) ;
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique) ;
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme.

Ces caractéristiques conditionnent les indications de leur utilisation et les possibilités d'association à des différentes molécules afin d'élargir le spectre d'action (Yala et *al.*, 2001).

4. Les principaux antibiotiques utilisés :

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques et ne sont pas toutes destinées qu'à l'usage humain. En effet, depuis les années 50 les antibiotiques sont utilisés comme principale classe de médicaments vétérinaires. Les substances utilisées appartiennent aux mêmes familles que celles utilisées en médecine humaine (Sanders et *al.*, 2011).

Le tableau ci-dessous résume les principales familles utilisées ainsi que leurs modes d'action et spectres d'activité.

Tableau 2.1 : Principaux antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Adapté de Chardon et Brugère, 2014 et Archambaud, 2009.

Familles	Utilisation	Modes d'action	Spectre d'activité
Bêta-lactamines	Médecines humaine et vétérinaire	Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, en particulier de la synthèse du peptidoglycane, ce qui modifie la rigidité de la structure et la forme de la bactérie. L'enveloppe externe est alors fortement fragilisée. La bactérie devient très sensible aux stress extérieurs (pression osmotique, température, stress mécanique) provoquant la lyse cellulaire.	Pénicillines : bactéries à Gram+, cocci à Gram-, staphylocoques, bacilles à Gram- et <i>P. aeruginosa</i> Céphalosporines : bactéries à Gram+, bacilles à Gram- entérobactéries et <i>P. aeruginosa</i> .
Polymixines	Médecine vétérinaire	Perturbation de la structure de la membrane plasmique, en s'insérant parmi les phospholipides externes, ce qui désorganise son intégrité. La perméabilité n'est alors plus assurée. Des métabolites et ions fuient en dehors de la cellule, provoquant la mort de la bactérie.	Bacilles à Gram-.
Aminosides	Médecines humaines et vétérinaire	Inhibition de la synthèse protéique en agissant sur les ribosomes et donc en bloquant leur action de synthèse des protéines. Cela empêche la formation de nouvelles protéines, donc la multiplication des bactéries voire, pour les aminosides, engendre leur destruction en provoquant la synthèse de protéines aberrantes.	Nombreux bacilles à Gram- et Gram+ et sur cocci à Gram+.

Macrolides	Médecines humaines et vétérinaire	Inhibition de la synthèse protéique en agissant sur les ribosomes et donc en bloquant leur action de synthèse des protéines. Cela empêche la formation de nouvelles protéines, donc la multiplication des bactéries voire, pour les aminosides, engendre leur destruction en provoquant la synthèse de protéines aberrantes.	Cocci Gram+ et Gram-, bactéries à multiplication intracellulaire : <i>Legionella, Chlamydia, Campylobacter</i> et Mycoplasmes.
Cyclines			Bactéries Gram+ et Gram-, <i>Borrelia, Rickettsies</i> , bactéries anaérobies ainsi que <i>Mycoplasma pneumoniae</i> et <i>Chlamydia</i>
Phénicoles			Bacilles à Gram- et +, cocci à Gram- et +, <i>Rickettsies, Chlamydia</i>
Quinolones	Médecine vétérinaire	Perturbation de la structure de l'ADN, en se fixant sur des enzymes majeures de régulation: la topoisomérase et l'ADN gyrase.	Entérobactéries et autres bacilles Gram-, Staphylocoques, <i>Legionella, Haemophilus, streptocoques, Chlamydia, Rickettsies</i> , mycobactéries.

Sulfamides	Médecine vétérinaire	Inhibition compétitive de la synthèse des bases de l'ADN. Les sulfamides sont des analogues structuraux de l'acide folique, intermédiaire de leur synthèse. Ce blocage conduit à un arrêt de croissance bactérienne.	Cocci Gram- et +, certains bacilles Gram-, <i>Chlamydia</i> , les toxoplasmes et coccidies.
Glycopeptides	Médecine humaine	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. Ils inhibent la transglycolysation en se liant au dipeptide terminal du peptidoglycane, en se chélatant à l'aminocyl-D-alanyl-D-alanine.	Spectre étroit sur bactéries à Gram +.

5. Modalités d'utilisation des antibiotiques :

En médecine humaine, les antibiotiques sont à usage curatif c'est à dire après que la maladie soit déclarée. Le traitement ne débutera donc qu'après réalisation de prélèvements microbiologiques. La durée de l'antibiothérapie est adaptée à chaque type d'infections et généralement ne doit pas être poursuivie au-delà de 10 jours. La voie d'administration quant à elle peut être orale réservée aux infections à priori non sévères, ou parentérale mieux adaptée pour les infections graves.

A l'inverse de leur usage en médecine humaine, l'utilisation des ATBs en médecine vétérinaire (en particulier dans les élevages) se décline en quatre utilisations principales : usage curatif une fois la maladie déclarée, usage méthyphylaxique intermédiaire entre le curatif et le préventif, usage préventif appelé prophylaxique et le dernier, usage zootechnique qui veut dire comme facteurs de croissance (Schwarz *et al.*, 2001).

a- Antibiothérapie :

Elle consiste en un usage curatif des ATBs pour soigner une maladie déclarée pour laquelle une charge bactérienne est importante. Les agents antimicrobiens sont utilisés selon la taille des animaux malades et la taille de l'élevage. Il s'agit d'une médecine collective. En effet, le traitement individuel chez les animaux producteurs de denrées alimentaires est presque impossible et n'est généralement utilisé presque uniquement chez les vaches laitières et les veaux dont la démarche est similaire à celle utilisée pour les humains. Donc, il est préconisé de traiter l'ensemble du troupeau par administration d'ATBs directement dans l'eau de boisson ou dans la nourriture dès l'identification d'un cas symptomatique ou malade. C'est

l'administration la plus répandue même si l'assimilation des ATBs n'est pas de manière homogène à travers l'ensemble des animaux (Schwarz *et al.*, 2001).

Concernant le choix de l'antibiotique, l'approche vétérinaire à l'inverse de l'approche humaine reste bien souvent probabiliste (AFSSA, 2006). Néanmoins, il est préconisé aux vétérinaires de conduire des diagnostics étiologiques les plus précis possibles afin de recourir à des ATBs à spectre étroit qui n'agiraient que sur le pathogène et non sur la flore commensale afin de limiter les résistances (Vandaële, 2012).

b- Métaphylaxie :

C'est l'administration d'ATBs à la totalité de l'élevage alors que seule une partie des animaux présentent des symptômes de la maladie, mais qu'il est prévu que la majorité voire la totalité du groupe devienne malade (la charge bactérienne est encore faible). Cette pratique permet de limiter le nombre d'animaux malades et morts avec des quantités d'antimicrobiens plus faibles que si la totalité de l'élevage était touchée. Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes. En d'autres termes, la métaphylaxie est mise en œuvre dès qu'une infection contagieuse se déclare et que 10 à 15% des animaux du lot sont malades elle combine ainsi la thérapeutique et la prévention. Ainsi cela permet de limiter les dépenses de traitement mais également de diminuer les coûts liés aux pertes de productivité qui seraient engendrées par la perte d'animaux (Borselli, 2017 ; Maillard, 2002).

c- Antibio prophylaxie :

Contrairement à l'antibiothérapie ou à la métaphylaxie, la prophylaxie est pratiquée à titre préventif et peut se faire à l'échelle de l'individu ou du troupeau. Le recours à la prophylaxie se fait à des moments clés de la production tels que le sevrage ou la mise en commun d'animaux provenant de différents troupeaux par exemple même si à ce moment-là les animaux ne sont pas malades. Elle apparaît donc comme un moyen de garantir la santé animale tout en assurant la rentabilité de la production. Il est à noter que cette modalité d'utilisation des ATBs est adaptée à une situation sanitaire donnée et doit être provisoire et ponctuelle car elle serait une des causes principales de la sélection de bactéries résistantes (Borselli, 2017 ; AFSSA, 2006).

d- Facteurs de croissance :

L'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs est très limité actuellement. Ces « antibiotiques régulateurs de flore » (ARF) ou « antibiotiques promoteurs de croissance » (AGP pour « antibiotic growth promoters ») sont utilisés à des doses très faibles, non curatives et en vue d'améliorer la croissance des animaux par un effet régulateur au niveau de la flore intestinale. Ces antibiotiques sont tous des agents chimio-thérapeutiques non

utilisés en médecine humaine pour limiter les risques de sélection de résistance vis-à-vis de molécules d'intérêt médical majeur pour la médecine humaine (AFSSA, 2006).

6. L'antibiorésistance :

Depuis leur découverte par Alexander Fleming en 1928, les antibiotiques sont devenus indispensables à la médecine humaine et vétérinaire. Toute fois, leur utilisation massive et/ou inappropriée durant le siècle dernier a conduit à l'émergence d'un phénomène naturel et inéluctable qui est « l'antibiorésistance » (Goossens *et al.*, 2005). L'OMS a reconnu que l'antibiorésistance représentait une menace majeure internationale pour la santé publique et que son développement pourrait considérablement changer la prise en charge des maladies infectieuses dans les années à venir (OMS, 2014).

6.1. Les types de résistance :**a- Résistance naturelle :**

Faisant partie du patrimoine génétique de l'espèce, elle est présente chez toutes les souches d'une même espèce. Elle est héréditaire donc se transmet à la descendance de manière verticale et reste stable en fonction du temps. Ainsi, elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques par sa spécificité familiale.

Ce type de résistance est dû le plus souvent à un défaut d'affinité ou à une inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, par exemple, la résistance naturelle des entérobactéries et *Pseudomonas* spp aux macrolides, molécules trop volumineuses pour traverser via les porines (Demoré *et al.*, 2012).

b- Résistance acquise :

Elle apparaît après emploi de l'antibiotique, en réponse à la pression de sélection des bactéries résistantes et ne concerne que quelques souches d'une même espèce. La population bactérienne est un ensemble hétérogène en évolution constante où mutations chromosomiques et échanges de matériel génétique entre bactéries sont les maîtres mots en matière de résistance acquise. Une même bactérie peut contenir plusieurs plasmides, comportant eux-mêmes plusieurs gènes de résistances ce qui explique le phénomène de résistance d'une bactérie à différentes familles d'antibiotiques, par exemple, *Streptococcus pneumoniae* de sensibilité diminuée aux pénicillines et résistante aux macrolides (Demoré *et al.*, 2012 ; Edouard Nagera *et al.*, 2011 ; EC N Pilly, 2014).

c- Autres résistances : croisée/associée :

La résistance croisée est la conséquence d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques qui n'appartiennent pas forcément à la même famille comme la résistance aux MLS conférée par méthylation de l'ARN 23S. En revanche, la résistance associée est la

conséquence de plusieurs mécanismes biochimiques et concerne des antibiotiques appartenant à des familles différentes.

6.2. Support de la résistance :

La résistance naturelle est un phénomène inné car elle est ancrée dans le génome bactérien. En retour, la résistance acquise est due à une modification génétique pouvant être de deux types :

a- Chromosomique : par mutation génétique affectant un gène de structure ou de régulation (apparition de bactéries résistantes à certains ATBs au sein d'espèces qui étaient initialement uniformément sensibles à ces ATBs). Ce phénomène est rare (10 à 20%) et se fait de manière spontanée et reste stable dans le temps, sa transmission se fait de manière verticale qu'il soit spécifique d'un ATB ou d'une famille.

b- Extra-chromosomique : par acquisition de gènes de résistance. Ce phénomène est plus fréquent (80 à 90%) ; les éléments génétiques sont mobiles et portés par des plasmides, des intégrons ou des transposons pouvant se transmettre de manière horizontale aux autres bactéries par simple contact ou bactériophagie, il touche plusieurs familles d'ATBs et entraîne une multirésistance (Fosseprez, 2013).

6.3. Causes de l'antibiorésistance :

a- En médecine humaine :

La principale cause de l'antibiorésistance est due aux prescriptions inadaptées des ATBs par les professionnels de santé. Les raisons de ces prescriptions abusives sont multiples : difficultés d'établir un diagnostic, prise en compte des complications pouvant être causées par des infections bactériennes, augmentation des populations à risques telles que les personnes âgées et immunodéprimées ou encore par une sollicitation venant directement des patients (Borselli, 2017).

b- En médecine vétérinaire :

D'après l'OMS, plus de 50% des ATBs produits à l'échelle mondiale sont destinés à l'usage vétérinaire. Leur utilisation dans l'alimentation animale en tant que promoteur de croissance (usage interdit depuis le 1^{er} janvier 2006 dans l'UE) ou pour le traitement de différentes maladies infectieuses, a progressivement et indubitablement contribué à l'accroissement de la résistance (Mangin, 2016).

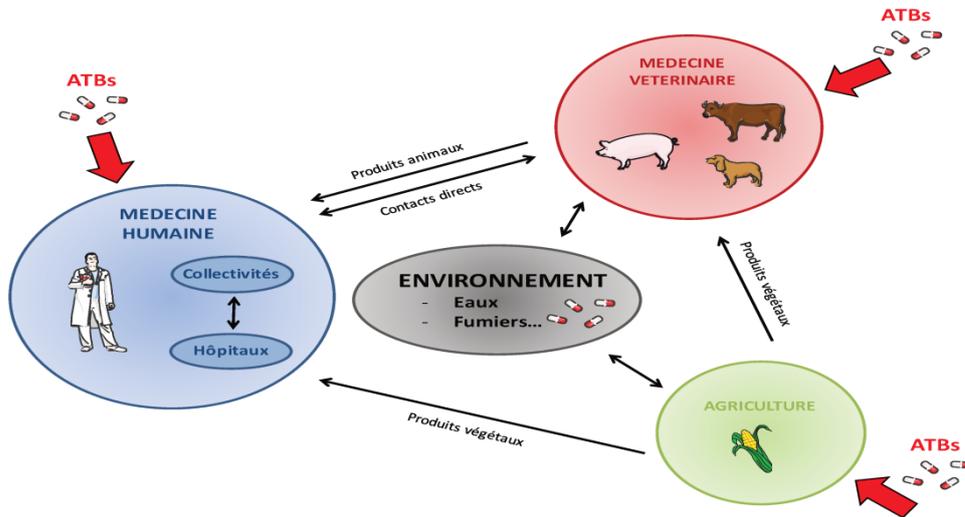


Figure 2.1 : Illustration de l'écosystème de l'antibiorésistance adapté de Borselli, 2017.

L'antibiorésistance chez les animaux (au niveau des élevages) peut avoir un impact sur la santé humaine comme il est démontré dans la figure ci-dessus. En effet, ce mécanisme de transmission, bien moins connu du grand public néanmoins existant, peut se faire par différentes voies résumées dans la figure ci-dessous :

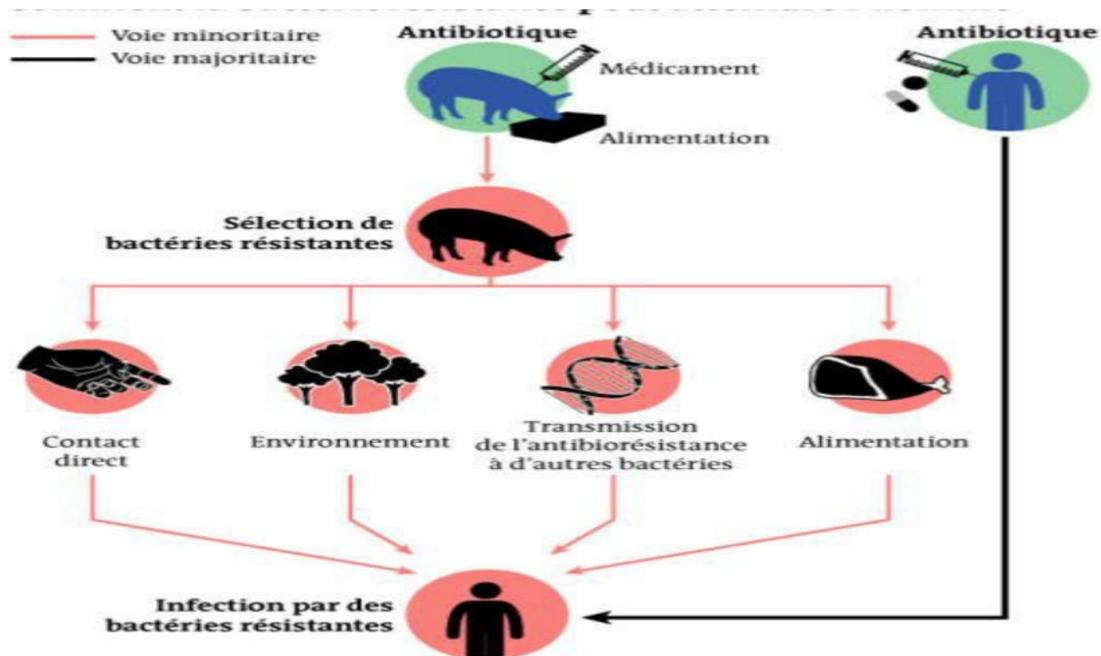


Figure 2.2 : Transmission de l'antibiorésistance de l'animal à l'humain adapté de Mangin, 2016

6.4. Mécanismes biochimiques de la résistance :

L'origine de la résistance aux antibiotiques peut être due à six paramètres différents :

- 1) L'inactivation de l'ATB par la production d'enzymes bactériennes qui le dégradent ;

- 2) La modification de la cible par la bactérie perturbant ainsi l'interaction avec l'ATB ;
- 3) Le mécanisme d'efflux actif permettant à certaines bactéries de synthétiser des canaux pour rejeter l'ATB à l'extérieur ;
- 4) Une diminution de la perméabilité membranaire à l'ATB, qui de ce fait, ne peut plus atteindre sa cible ;
- 5) La protection de la cible par un encombrement stérique ribosomal ;
- 6) Le piégeage de l'ATB par superproduction de la cible ou par la synthèse de molécules capables de leurrer. Dans les deux cas, la molécule antibiotique est incapable d'interagir avec sa cible et donc d'exercer son activité.

✚ Une même bactérie peut présenter plusieurs de ces mécanismes de résistance (Muylaert et Mainil, 2015).

7. Les alternatives aux antibiotiques :

Récemment, plusieurs travaux de recherche ont tenté de remplacer les antibiotiques par d'autres molécules potentiellement intéressantes.

De nombreux produits, à base de plantes ou d'huiles essentielles ou d'autres composants promus comme naturels, se présentent comme des alternatives aux antibiotiques. Toutefois, dans la quasi-totalité des cas, ces produits n'ont pas été testés en comparaison avec des antibiotiques. Ils ne peuvent donc pas prétendre se substituer aux antibiotiques avec la même efficacité.

En outre, souvent, ils ne sont pas fabriqués avec les normes pharmaceutiques. Ni leur innocuité ni leur efficacité n'ont pu être vérifiées comme le sont les médicaments qu'ils prétendent remplacer. L'Agence du médicament n'a donc pas pu les évaluer, ni même en contrôler la composition.

a- Les enzymes

Dierick et al. (2008) ont étudié la capacité d'enzymes lipolytiques à remplacer les antibiotiques chez le porcelet. Dans cette étude, les auteurs ont observé un effet significatif sur la flore colique. Cependant, ils ont échoué à prouver l'effet nutritif de cette stratégie

b- Les huiles essentielles

Veras et al. (2012) ont suggéré l'utilisation des huiles essentielles de *Lippiasidoides*. Dans ce travail, les auteurs ont démontré l'effet antimicrobien du thymol, l'un des composés majeurs de cette huile contre des pathogènes potentiels comme les *Staphylococcus aureus*. Cependant les effets nutritionnels de cette huile et son innocuité restent à explorer.

c- Les extraits de plantes

D'autres études s'intéressent plutôt aux extraits de plantes. Les effets d'extraits d'herbes chinoises sur la croissance d'animaux d'élevages et leur capacité à remplacer les antibiotiques ont fait l'objet d'une revue de littératures par Liu et *al.*(2011). Les extraits de plantes et les huiles essentielles sont comptés parmi les éléments à effet antimicrobien (Griggs and Jacob, 2005) et sont connues par leur action sur la stimulation de la digestion (Brenes and Roura, 2010). Les plantes ont la capacité de réagir aux attaques microbiennes à travers un répertoire hautement coordonné de barrières défensives moléculaires, cellulaires et tissulaires à la colonisation et l'invasion des pathogènes. Quant aux huiles essentielles, ils composent des défenses redoutables contre certain composants chimiques (Taylor, 2013 ; Botsoglou, Yannakopoulos et *al.*, 1997). Certaines des formes chimiques antimicrobiennes bioactives, dérivent de plantes grâce aux terpènes qui sont des composés phénoliques, des glycosides et des alcaloïdes. Le gingembre, le poivre, la coriandre, le laurier, l'origan, le romarin, la sauge, le thym, les clous de girofle, la moutarde, la cannelle, l'ail, le citron, l'écorce d'agrumes (citron vert, citron jaune, orange), et le tabac sont quelques représentants d'une très longue liste de produits de plantes ayant des propriétés antibactériennes (Hume, 2011). Néanmoins, les auteurs concluent que les résultats obtenus avec cette stratégie sont contradictoires. Ils soulignent également le manque accru de données scientifiques sur le mécanisme d'action de ces extraits de plantes.

d- Phagothérapie (microbes vs microbes) :

Les bactériophages sont des virus capables de détruire les bactéries, dont la première utilisation date d'avant la découverte des antibiotiques. Avec l'essor de l'antibiothérapie, l'usage thérapeutique des phages est resté très limité dans les pays occidentaux alors qu'il s'est poursuivi dans les pays de l'ex-Europe de l'Est. Depuis quelques années, il existe un certain regain d'intérêt pour ce traitement, notamment pour les infections à bactéries multi- ou toto-résistantes. Néanmoins, les avantages théoriques de la phagothérapie (spécificité d'action contre certaines espèces bactériennes voire contre certaines souches précises, bactéricidie rapide, pas d'effet sur les cellules humaines ni sur le microbiote de l'hôte) sont contrebalancés par d'importantes limites (nécessité de conduire/ acheminer le phage sur le site infecté, donc avec une application préférentiellement locale, inefficacité sur les bactéries intracellulaires, manque de cadre réglementaire) qui rendent difficiles son application en pratique clinique (Ravat et *al.*, 2015).

Chapitre III : Les symbiotiques**1. Définition des symbiotiques :**

Le concept « symbiotique » est utilisé de plus en plus afin d'évoquer la relation synergique entre les microorganismes probiotiques et leurs substrats sélectifs. Cela constitue un mélange de probiotiques et prébiotiques affectant positivement l'hôte en améliorant la survie et l'implantation d'espèces microbiennes vivantes apportées sous forme de suppléments alimentaires dans le tractus gastro-intestinal, et par conséquent, la santé de l'hôte (Suskovic et *al.*, 2001 ; Isolauri et *al.*, 2002).

1.1. Les probiotiques :**1.1.1. Définition des probiotiques :**

Par définition le mot probiotique signifie "pour la vie" et qui est né suite aux travaux de Metchnikoff en 1908 qui stipulaient que les bactéries lactiques ingérées vivantes pouvaient avoir un effet bénéfique pour la restauration du microbiote dans le tractus gastro-intestinal. Mais, c'est dans les années 1960 que les probiotiques furent développés et commercialisés pour usage dans les élevages afin de restreindre l'utilisation des antibiotiques en alimentation animale.

Depuis, le terme "probiotique" a donné lieu à plusieurs définitions au cours du temps. Notamment, celle révisée par la WHO (World Health Organization) et la FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations) en 2001 et mise à jour et renforcée en 2014 par l'ISAPP (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics). Cette définition s'énonce comme suit : "les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, produisent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte".

1.1.2. Critères de sélection des probiotiques :

Les microorganismes doivent posséder diverses propriétés de survie pour répondre à la définition des probiotiques (Gagnon, 2007). Ils doivent avoir la capacité de survivre et de persister temporairement dans le tractus digestif ainsi que de montrer une activité se traduisant par des effets positifs pour l'hôte (Izquierdo, 2009). Or, chaque souche a ses propres propriétés et ne peuvent être extrapolées à une autre souche (Dunne, O'Mahony et *al.*, 2001).

Ils doivent donc être sélectionnés selon des critères bien précis les regroupant dans différentes catégories à savoir les critères de sécurité, fonctionnels et technologiques. Ces derniers sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3.1 : Principaux critères de sélection des probiotiques. Adapté de Rousseau, 2004 et Gagnon, 2007

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> – Identification taxonomique précise ; – D'origine humaine pour usage humain ; – Souche déposée dans une collection de cultures reconnue internationalement et caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques ; – Historique de non pathogénéicité ainsi que de non-invasion de l'épithélium intestinal (dégradation non excessive du mucus et déconjugaison non excessive des sels biliaires au risque d'induire des lyses cellulaires) ; – Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques.
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> – Tolérance à l'acidité, à la bile et aux enzymes digestives et gastriques ; – Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus gastro-intestinal ; – Immunomodulation ; – Production de substances antimicrobiennes (bactériocines, acides organiques,...) et antagonisme vis-à-vis des pathogènes ; – Effets bénéfiques sur la santé documentés.
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> – Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini ; – Conservation des propriétés probiotiques après production.

Dans les critères de sécurité, l'identification taxonomique de la souche détient le statut important dans l'établissement de nouvelles souches potentiellement probiotiques (Holzapfel et al., 2001). L'identification doit être par des techniques moléculaires fiables et chaque souche est confrontée à une nomenclature actualisée (FAO/WHO, 2002 ; Gueimonde et Salminen, 2006). Actuellement, selon la FAO et la WHO en 2002, la méthode moléculaire de référence pour identifier une souche est celle du séquençage de la région d'ADN codante pour l'ARN ribosomal 16S. Cette méthode est couramment utilisée mais, il est recommandé

qu'elle soit combinée à des tests biochimiques et phénotypiques pour s'assurer de la conformité de la souche en question. Une autre condition est également importante et c'est celle de l'origine de la souche ; son importance réside dans l'interaction spécifique avec l'hôte et qui est maximisée quand elle provient du même habitat (Alvarez-Olmos et Oberhelman, 2001). La souche probiotique doit aussi être sécuritaire en ne causant pas d'effet négatif pour la santé et doit bénéficier du statut « Generally Regarded As Safe » (GRAS). Entre autre, elle sera évaluée afin qu'aucun effet secondaire ne soit détecté ; on peut citer l'exemple d'infection ou celui du transfert de gènes comme la résistance aux antibiotiques (FAO/WHO, 2002).

Pour qu'un probiotique puisse être considéré comme tel et intervenir dans le bon fonctionnement du tractus digestif de l'hôte, il est primordiale qu'il atteigne son site d'action à l'état vif. C'est-à-dire atteindre la muqueuse intestinale en conservant sa viabilité (Holzapfel, 2001). Pour ce faire, il doit résister à l'environnement acide de l'estomac ainsi qu'à la bile sécrétée dans le duodénum (Dunne et al., 2001 ; Gueimonde et Salminen, 2006). Les souches probiotiques sont donc sélectionnées au niveau du laboratoire (tests *in vitro*) selon leur aptitude à maintenir leur intégrité cellulaire, leur activité métabolique lors du passage gastro-intestinal ainsi que leur capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale. Cette dernière est une propriété essentielle, car plus la souche probiotique a une capacité importante d'adhérer, plus son temps de présence au niveau intestinal est augmenté ce qui amène à augmenter son action potentielle à interagir avec l'organisme et cela par une stimulation du système immunitaire et par la prévention d'implantation des pathogènes sur les cellules épithéliales intestinales grâce à de mécanismes de compétition (Saarela et al., 2000). Pour évaluer l'adhésion des probiotiques *in vitro*, on fait appel aux lignées cellulaires. Caco-2, Int-407 et HT-29 sont les cellules classiquement utilisées en raison de leurs similitudes morphologiques et physiologiques avec les entérocytes humains (Dunne et al., 2001 ; Jacobsen et al., 1999). Des techniques conventionnelles de détection de l'attachement bactérien sont également utilisées ; on cite comme exemples l'énumération par comptages sur cellules, par coloration de Gram ou marquage radioactif mais encore par quantification par PCR en temps réel (Le Blay et al., 2004 ; Servin, 2004 ; Candela et al., 2005). Ces études *in vitro* ont montré que l'adhésivité diffère d'une souche à une autre et elle peut être retrouvée en étant forte chez *Lactobacillus johnsonii* La1, *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* LB ainsi que chez *Bifidobacterium breve* 4 ou *B. infantis* 1 (Bernet et al., 1993 ; Tuomola et Salminen, 1998). Cette capacité d'adhésion des probiotiques à la muqueuse intestinale a également été évaluée *in vivo*, confirmant que c'est une propriété souche-dépendante (Servin et al., et Coconnier, 2003). Pour une efficacité de l'immunité intestinale, les probiotiques interagissent

avec le système immunitaire de l'hôte par le biais de cytokines et d'autres messagers chimiques solubles qui rejoignent la *Lamina propria*. Ce processus est appelé immunomodulation et est une modulation de l'immunité qu'elle soit innée ou adaptative. Parmi l'ensemble des critères cités dans le tableau, l'aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte est la première caractéristique qu'une souche probiotique puisse avoir.

Du point de vue technologique, les souches probiotiques doivent prendre en compte plusieurs critères, la résistance aux phages, la survie au cours du procédé de fabrication, la facilité à être cultivées tout en conservant leurs propriétés biologiques ou encore la stabilité pendant le stockage (Jankovic et *al.*, 2010 ; Champagne, Gardner et *al.*, 2005 ; Saarela et *al.*, 2000).

1.1.3. Les différents microorganismes probiotiques et leurs caractéristiques :

En se référant à la définition précédente, tous les microorganismes administrés vivants et ayant une action bénéfique peuvent être considérés comme probiotiques. Néanmoins, une infime partie de ces microorganismes a fait l'objet d'études approfondies apportant les preuves de leurs effets bénéfiques. Selon Tannock (1997), les genres bactériens et fongiques incluant *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces* et *Aspergillus*. Les espèces microbiennes utilisées en alimentation animale diffèrent sensiblement de celles utilisées en alimentation humaine. Les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont majoritairement utilisés pour des applications en nutrition humaine ; tandis que les genres *Bacillus*, *Enterococcus* et *Saccharomyces* sont plus utilisés dans les élevages (Simon et *al.*, 2001). La différence est rencontrée au niveau des objectifs d'efficacité, des aspects sécuritaires, des fréquences d'ingestion, des contraintes de fabrication ou de stockage ou encore de la réglementation (Bernardeau et Vernoux, 2009).

a- Le genre *Lactobacillus* :

Se présentant sous forme de bâtonnets longs et fins souvent regroupés en chaînes, ce sont des bactéries à Gram positif, non sporulées généralement immobiles, catalase négative, nitrate réductase négative. Elles sont microphiles ou anaérobies, leur métabolisme énergétique est exclusivement fermentaire. Les lactobacilles se multiplient dans une gamme de température comprise entre 15 et 45°C et se développent mieux dans des conditions acides où le pH avoisine les 4,5 à 6,4. Ce genre est caractérisé par de nombreuses exigences nutritionnelles telles que les acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et minéraux. (De Vos et *al.*, 2009 ; Perry et *al.*, 2004 ; Prescott et *al.*, 2003)

Selon Orla-Jensen, les lactobacilles sont subdivisés en trois groupes selon leur type fermentaire :

- **Groupe I** : « Thermobacterium », comprend les espèces homofermentaire thermophiles se développant à 45°C. Exemples de celles les plus fréquentes en alimentation : *L. acidophilus*, *L. helveticus*.
- **Groupe II** : « Streptobacterium », comprend les espèces homofermentaires mésophiles et qui peuvent être hétérofermentaires facultatives (occasionnellement hétérofermentaires) en fonction du substrat. Exemples de celles utilisées dans l'alimentation : *L. casei*, *L. sake*, *L. curvatus*, *L. plantarum*.
- **Groupe III** : « Betabacterium », regroupe les lactobacilles hétérofermentaires. Exemples : *L. brevis* ; *L. fermentum*.

b- Le genre *Streptococcus* :

De la famille *Streptococcaceae*, ce sont des coques en paires ou en chaîne, à Gram positif, non sporulées, immobiles et anaérobies facultatives. Ce groupe étant large, sa classification est très mouvementée et évolue constamment en fonction des recherches en passant par la classification de Lancefield en 1933 jusqu'aux méthodes génomiques de nos jours. A l'heure actuelle, la classification de Lancefield est moins appréciée mais reste toujours utile dans l'identification rapide des bactéries pathogènes.

Le genre est divisé généralement en trois groupes : **pyogène** dont plusieurs sont pathogènes et hémolytiques nuisant ainsi à la santé, **oral** divisé en cinq sous-groupes phylogénétiques "*anginosus*, *mitis*, *salivarius*, *bovis* et *mutans*" et **les autres streptocoques**.

En technologie alimentaire, seule l'espèce *Streptococcus thermophilus* est utilisée. Précédemment incluse dans le groupe des "autres streptocoques" selon Scheilfer(1987), elle est transférée au groupe des streptocoques oraux en raison de leur degré d'homologie avec l'ADN de *S. salivarius* (Haddie et al., 1986).

c- Le genre *Enterococcus* :

La création de ce genre est justifiée en 1984 après que les méthodes moléculaires ont montrés que ses espèces initialement décrites et classées comme étant des streptocoques fécaux par Thiercelin, étaient distinctes des autres streptocoques. (Schleifer et al., 1984).

Les entérocoques appartiennent au groupe sérologique D d'après la classification de Lancefield, sont des commensaux de l'intestin, de forme cocci à Gram positif, non capsulés, immobiles anaérobies aérotolestants, oxydase et catalase négatives, disposés en paires ou en courtes chainettes. Ils se distinguent par leur capacité à croître dans les températures entre 10°C et 45°C, en milieu hyper salé (6,5% NaCl), en présence de 40% de bile et à des pH alcalins (9,6).

Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *E. faecalis* et ses variétés *E. durans* et *E. bovis*.

d- Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella* :

Appartenant tous à la famille *Leuconostocaceae*, ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes, possédant un caractère hétérofermentaire marqué et produisent de l'acide lactique, du CO₂ et de l'éthanol. La croissance à différentes températures et principalement utilisée pour distinguer les coques entre elles. La différenciation entre *Leuconostoc* et *Weissella* peut se faire par des caractéristiques telles que les modes de fermentation des hydrates de carbone, la formation du dextrane, l'hydrolyse de l'esculine, les conditions de croissance et l'assimilation du citrate et/ou malate (Pilet et al., 1998 ; Ho et al., 2007).

La croissance des *Leuconostoc* est toujours lente et leur développement entraîne souvent la viscosité du milieu par production des exopolysaccharides (Guiraud et al., 2003).

L'espèce *Oenococcus oeni* isolée des vins classifiée autre fois *Leuconostoc oenos*. Egalement, Collins et al (1993) transfèrent l'espèce *Leuconostoc paramesenteroïdes* ainsi que cinq autres espèces de lactobacilles hétérofermentaires dans le nouveau genre *Weissella* (Stiles et Holzappel, 1997).

Actuellement, le genre *Leuconostoc* compte quatorze espèces et entrent en jeu dans l'industrie laitière principalement les *L. mesenteroïdes* ssp. *Cremoris* et qui sont utilisés en association avec les lactocoques pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂, des substances aromatiques telles que diacétyl et acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008).

e- Les genres *Pediococcus* :

Ce sont des coques homofermentaires formées de cellules groupées en tétrades. En effet, elles sont les seules coques acidophiles et homofermentaires se divisant alternativement dans deux plans aboutissant ainsi à la formation de tétrades (Simpson et al., 1995).

Dans l'agroalimentaire, les *P. acidilactici* et *P. pentosaceus* sont utilisés dans l'élaboration de plusieurs produits carnés fermentés naturels comme agents antibactériens ou probiotiques dans la fabrication de ces produits (Ruiz-Moyano et al., 2008 ; Albano et al., 2007 ; Schneider et al., 2006).

Egalement, les pédiocoques sont des bactéries lactiques autochtones permettant la maturation des fromages (Gonzalez et al., 2007 ; Gurira et al., 2005), mais aussi utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong et al., 2005).

Précédemment considérées comme *P. halophilus*, les *Tetragenococcus halophilus* résistent à des concentrations de sel élevées (supérieure à 18% NaCl) et ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à forte concentration en sel tels que les sauces soja (Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong et al., 2005).

f- Le genre *Bifidobacterium* :

Il a fallu attendre la huitième édition du Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, pour que le genre *Bifidobacterium* soit reconnu et inclus dans la famille des *Actinomycetaceae* de l'ordre des *Actinomycetales* (Biavati et al., 2000 ; Ventura et al., 2004b). Il fait partie du groupe des bactéries lactiques en raison de similitude des propriétés physiologiques et biochimiques en plus de leur présence dans le même habitat écologique comme le tube gastro-intestinal mais, phylogénétiquement sont différents. Ses espèces sont des bâtonnets aux formes variées dont la plus caractéristique est une forme Y. elles sont non sporulées à Gram positif anaérobies strictes. Leurs conditions optimales de croissance se situent à des températures entre 37°C et 41°C et à des pH compris entre 6,5 et 7,0. Les bifidobactéries sont hétérofermentaires dégradant les hexoses en produisant de l'acide lactique et acétique (Scardovi, 1986). Leur identification est effectuée par la présence de l'activité fructose-6-phosphoketolase (F6PPK), une enzyme clé du genre *Bifidobacterium* (Ventura et al., 2004b et Gagnon, 2007). Les bifidobactéries ayant des effets probiotiques et utilisées commercialement, sont moins nombreuses que les lactobacilles et la souche la plus étudiée est *Bifidobacterium lactis* Bb12 (Prioult, 2009).

g- Les levures :

Ce sont des champignons dont la forme unicellulaire prédomine. Les cellules peuvent être sphériques, ovoïdes, allongées, cylindriques,... dont la taille varie de 2-3µm à 20-50µm de long et une largeur de 1 à 10µm ; le mode de reproduction le plus courant chez celles-ci est le bourgeonnement. Elles sont utilisées comme des additifs alimentaires chez les animaux en vue d'améliorer les performances zootechniques et chez l'homme comme régulateur de la flore intestinale (Rolfe, 2000 ; Toma et al., 2005).

Les levures probiotiques sont du genre *Saccharomyces* ; *S. cerevisiae* est utilisée en boulangerie ou pour la production des boissons alcoolisées ainsi que *S. boulardii* une levure non pathogène d'origine tropicale, initialement isolée de boissons préparées à base de litchis et mangoustans par les populations d'Asie du Sud-est (Czerucka et al., 2007).

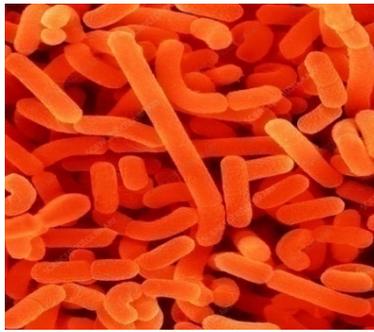


Figure3.1 : *Lactobacillus acidophilus*

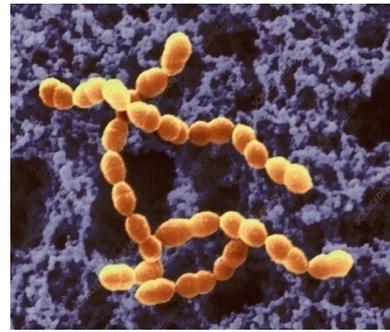


Figure3.2 : *Streptococcus thermophilus*

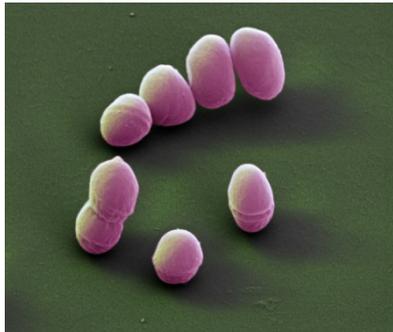


Figure3.3 : *Enterococcus faecalis*

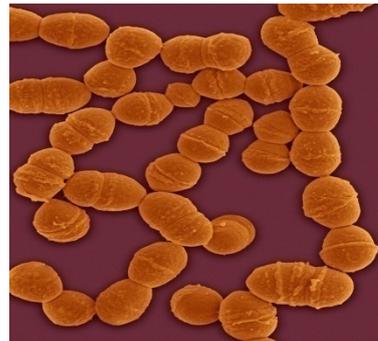


Figure3.4 : *Leuconostoc citreum*

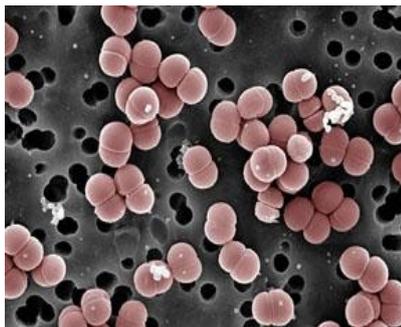


Figure3.5: *Pediococcus*

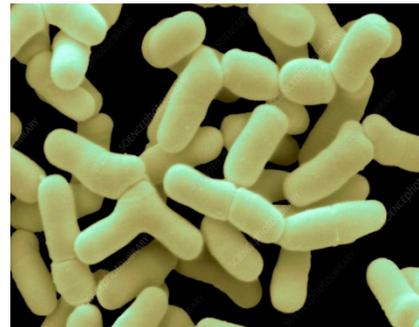


Figure3.6: *Bifidobacterium bifidum*

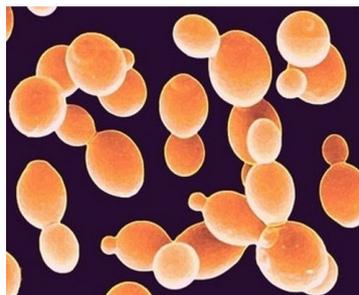


Figure3.7 : *Saccharomyce boulardii*

(Les figures sont toutes sous microscope électronique à balayage tirées de www.sciencephoto.fr)

1.1.4. Production de substances antimicrobiennes :

L'activité microbienne des probiotiques et probablement l'activité la plus documentée et plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer ces activités.

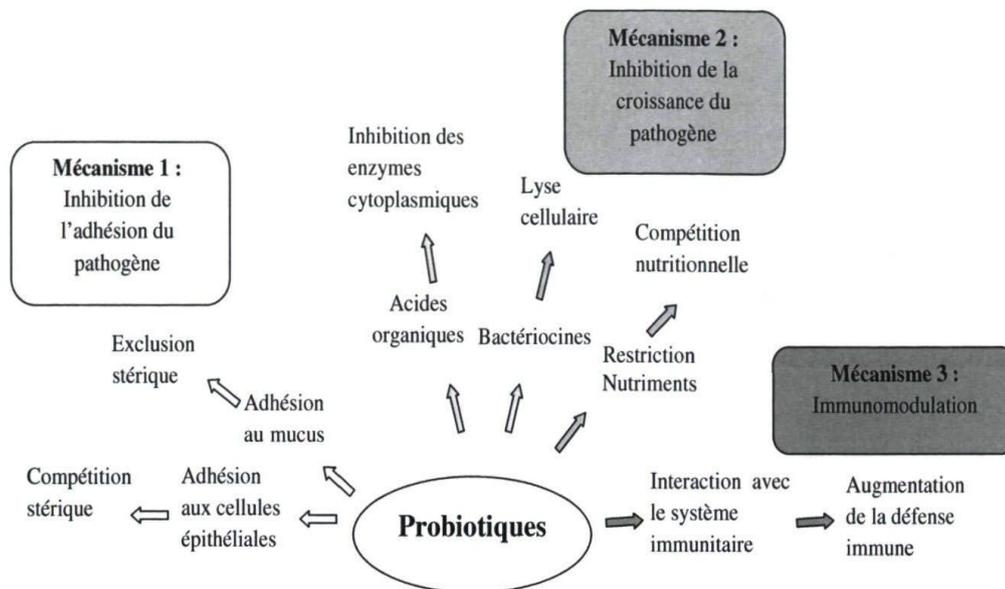


Figure 3.8 : Mécanismes d'action proposés des probiotiques dans le traitement des infections entériques. Adapté de Kaur, Kuhad *et al.*, 2009 ; Calder et Kew, 2002

Un des mécanismes qui suscite de plus en plus d'intérêt en recherche dans le domaine de probiotiques est la production de substances inhibitrices. C'est un mécanisme d'action des probiotiques concernant l'inhibition de la croissance des pathogènes grâce à des composés antimicrobiens. Les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* d'origine humaine peuvent produire des substances antimicrobiennes, telles que les acides organiques, qui sont actives *in vitro* et *in vivo* contre les microorganismes entérovirulants qui sont impliqués dans le cas de diarrhée (Servin, 2004). L'acide lactique et l'acide acétique sont produits via la fermentation des hexoses par les lactobacilles et les bifidobactéries. Ces acides organiques peuvent diffuser passivement à travers la membrane bactérienne sous leur forme non dissociée. Ils acidifient le cytoplasme après dissociation et inhibent l'activité enzymatique cellulaire des pathogènes acidosensibles (Deng *et al.*, 1999). Cette diminution du pH peut donc affecter la viabilité des pathogènes bactériens (Bruno et Shah, 2002 ; Servin, 2004).

Hutt *et al.* (2006), ont observé d'après une étude réalisée *in vitro* que l'activité anti-salmonella produite par trois souches de *Lactobacillus*, *L. paracasei* 8700 :2, *L. plantarum* 299v et *L. fermentum* ME-3, en condition microaérophile de même que l'activité anti-shigella de deux bifidobactéries, *B. lactis* Bb12 et *B. longum* 46, en condition anaérobie étaient associées à un effet de pH. Une corrélation positive a été observée entre la production d'acide lactique et l'activité inhibitrice. Cependant, la quantité d'acide acétique et l'activité inhibitrice des

lactobacilles et des bifidobactéries cultivées en conditions anaérobiques étaient corrélées de façon négative.

Sur un modèle murin, Asahara *et al.*, (2001) ont observé qu'une infection à salmonelles induite lors d'un traitement aux antibiotiques pouvait être réduite de façon importante par précolonisation de l'intestin avec la souche *B. breve* Yakult. D'après ces auteurs, la production d'acides organiques par la souche probiotique et une réduction du pH fécal seraient importantes pour l'activité anti-infectieuse obtenue contre la souche *Salmonella* Typhimurium. En utilisant la même souche, selon ces mêmes auteurs ont observé que la production d'une forte concentration d'acides organiques peut également jouer un rôle important dans l'inhibition de la production de toxines par une souche de *E. coli* O157:H7 dans un modèle murin (Asahara *et al.*, 2004).

Aussi, la production d'autres agents antimicrobiens tels que les bactériocines, ont été rapportés principalement lors d'études *in vitro*. Ces bactériocines sont définies comme étant des composés protéiques ayant une activité inhibitrice contre un large spectre de souches bactériennes (Klaenhammer, 1993). Elles peuvent être regroupées en deux catégories : les composés peptidiques et les composés non-peptidiques (Peroxyde d'hydrogène ou acides gras à courte chaîne carbonée tel que l'acide lactique) (Oelschaeger, 2010). Elles agissent principalement sur la membrane externe des bactéries cibles formant des pores qui mènent à la libération du contenu intracellulaire et la mort de la bactérie affectée (Klaenhammer, 1993). Selon Fooks et Gibson (2002), les lactobacilles sont souvent associés à la production de bactériocines. En revanche, la production des bactériocines par les souches de bifidobactéries est moins documentée. Néanmoins, il a été rapporté que la souche *B. bifidum* NCFB1454 produit une bactériocine active contre *Listeria monocytogenes* (Yildirim et Johnson, 1998). La nomenclature des bactériocines est relativement simple, le suffixe "ine" est utilisé pour dénoter une activité bactériocinogène de la même manière que la terminaison "ase" est associée à la dénomination d'enzymes (Kaiser et Montville, 1993). Certaines tirent leur nom de la souche productrice, d'autres sont nommées en termes généraux ("colicines" produites par les coliformes ; "lactostrepcines" produites par les streptocoques lactiques) (Kozak, Bardowski *et al.*, 1978 ; Klaenhammer, 1988 ; Ecker, 1992).

La famille des bactériocines inclue une diversité des protéines en termes de taille, cibles microbiennes, modes d'action et mécanismes d'immunité (Gagnon, 2007). Les bactériocines produites par les bactéries à Gram négatif (principalement de l'écosystème intestinal) sont principalement représentées par la famille des *Enterobacteriaceae* et sont réparties en deux grands groupes, les colicines et les microcines.

a- Les colicines :

Elles sont largement étudiées et identifiées en une trentaine de molécules différentes et sont toutes produites par *E. coli* (Braun, Killmann et al., 2002) et possèdent un spectre d'activité restreint aux souches phylogénétiquement proches (Gillor, Nigro et al., 2005). Elles possèdent un poids moléculaire élevé compris entre 25 et 82 KDa (Dirix, Monsieurs et al., 2004).

Une classification a été proposée en 2002 par Braun, Patzer et al. et Lazzaroni, Dubuisson et al. Elle est effectuée selon la voie de translocation dans la cellule cible que les colicines utilisent. En effet, la structure de leur domaine T permet l'interaction avec les systèmes péri-plasmiques Tol (colicines du groupe A) ou Ton (colicines du groupe B) (Cao et klebba, 2002 ; Gillor, Kirkup et al., 2004). Le groupe A comprend les colicines : A, E1, à E9, K, N et DF13 tandis que le groupe B regroupe les colicines : B, D, Ia, Ib, M, 5 et 10.

Tableau3.2 : Classification des colicines et leurs cibles cellulaires (Lazdunski, Bouveret et al., 2000).

Groupes	Colicines	Cibles cellulaires
Groupe A	A	Membrane cytoplasmique
	DF13	Acides nucléiques
	E1	Membrane cytoplasmique
	E2, E7, E8 et E9	Acides nucléiques
	E3 à E6	Acides nucléiques
	K	Membrane cytoplasmique
	N	Membrane cytoplasmique
Groupe B	B	Membrane cytoplasmique
	D	Acides nucléiques
	Ia et Ib	Membrane cytoplasmique
	M	Peptidoglycane
	5 et 10	Membrane cytoplasmique

b- Les microcines :

Elles sont présentées pour la première fois par Asensio et al. en 1976 comme étant une nouvelle famille de peptides à activité antibiotique produits par les bactéries à Gram négatif. Les microcines sont définies en tant que peptides antibiotiques de faible poids moléculaire produit par des bactéries non sporulantes isolées à partir du tractus intestinal humain, sécrétés dans le milieu de culture et agissant sur des microorganismes phylogénétiquement proches (Asensio, Perezdiaz et al., 1976). Formant un groupe spécifique de peptides à activité

antibiotique, elles se distinguent des colicines par de nombreuses caractéristiques dont leur petite taille (<10kDa) et leur sécrétion non létale pour les bactéries productrices (David, Oliver et *al.*, 2007). Aussi, contrairement aux colicines, elles ne sont pas produites uniquement par de souches d'*Escherichia coli*. Effectivement, une microcine a été découverte chez une souche de *K. pneumoniae* (De Lorenzo 1984).

Jusqu'à ce jour, dix microcines ont été identifiées, sept d'entre elles sont bien caractérisées (Mcc B17, C7, E492, J25, H47, L et V) et les trois autres sont peu connues (Mcc D93, M et N24). Elles sont réparties en deux classes en fonction des différences au niveau de leur poids moléculaire et des modifications post-traductionnelles (Pons, Lanneluc et *al.*, 2002).

Tableau 3.3 : Les dix microcines découvertes (Ben Abdallah, 2010).

	Microcines	Références
Classe I	B17	(Patzer, Baquero et al.2003)
	C7	(Garcia-Bustos, Pezzi et al.1984)
	D93	(Martinez, Carter-Franklin et al.2003)
	J25	(Salmon et Farias, 1992)
Classe II	E492	(De Lorenzo, 1984)
	H47	(Lavina, Gaggero et al.1990)
	L	(Gaillard-Gendron, Vignon et al.2000)
	M	(Braun, Killmann et al.2002 ; Patzer, Baquero et al.2003)
	N24	(O'Brien et Gibson, 1970)
	V	(Gratia, 1925 ; Yang et Leong, 1982)

La classe I regroupe les microcines B17, C7, D93 et J25. Elles ont un très faible poids moléculaire, inférieur à 5 kDa, sont largement modifiées post-traductionnellement et sont toutes sécrétées par *Escherichia coli* (Pons, Lanneluc et al. 2002). Les microcines de classe II comprennent les microcines E492, H47, L, M, N24 et V et sont synthétisées sous forme de précurseurs avec des peptides signal très homologues. Elles sont de plus grande taille (7 à 10 kDa). Les microcines de classe II sont toutes hydrophobes et non modifiées post-traductionnellement.

En plus des bactériocines, certaines souches probiotiques sont capables de produire des substances antibiotiques. C'est le cas de *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 qui libère un composé antimicrobien à large spectre appelé reuterine. Celui-ci dispose d'une activité inhibitrice à l'encontre des bactéries Gram positif et négatif, des micromycètes, de certains protozoaires et virus (Oelschaeger, 2010).

1.1.5. Les effets bénéfiques attribués aux probiotiques :**A- Effets de santé chez l'homme :**

Ces microorganismes contribuent dans l'amélioration de la santé intestinale et influencent positivement le développement et l'activité du système immunitaire. Effectivement, de nombreux effets leur sont attribués (Gareau et *al.*, 2010 ; Gill et Prasad, 2008 ; Moayyedi et *al.*, 2010) :

- L'aide à la malabsorption du lactose due à l'activité lactase bactérienne (de Vrese et *al.*, 2001) ;
- L'amélioration de la valeur nutritionnelle des aliments ;
- La protection contre les infections gastro-intestinales (diarrhée du voyageur, diarrhée infantile, diarrhée induite par les antibiotiques,...) (Isolauri et *al.*, 1991 ; McFarland et *al.*, 1994) ;
- Le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (Kruis et *al.*, 2004 ; Prantera et *al.*, 2002) ;
- La lutte contre les infections à *H. pylori* (Nista et *al.*, 2004 ; Wang et *al.*, 2004a) ;
- La stimulation du système immunitaire ;
- La lutte contre la constipation ;
- La prévention des infections uro-génitales ;
- La neutralisation de carcinogènes alimentaires ;
- La réduction du risque de maladie coronarienne (Ebel et *al.*, 2012) ;

De plus, plusieurs travaux ont mis en évidence un effet sur la réduction des symptômes dus aux infections hivernales dont les plus récents sont ceux de Berggren et *al.*, et Mané et *al.*, effectués en 2011.

B- Effets chez l'animal :

Les effets bénéfiques des probiotiques chez l'animal sont sanitaires et amélioration des capacités zootechniques :

a. Efficacité sanitaire :

L'effet sanitaire peut résulter d'une augmentation de la résistance de l'écosystème digestif à la colonisation microbienne appelé aussi effet barrière, ou d'une stimulation des défenses immunitaires particulièrement l'immunité locale (Guillot, 1998). Les probiotiques exercent des activités antibactériennes contre divers bactéries pathogènes notamment contre les microorganismes fréquemment responsables d'infections : *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* (Van immerseel et *al.*, 2002 ; Van immerseel et *al.*, 2005). En effet, de nombreuses expériences (principalement portées sur les poulets) confirment les effets des souches probiotiques notamment les *Lactobacillus* contre les souches d'*E. coli* et

Salmonella. Ces expériences montrent qu'il serait possible de réaliser une colonisation dirigée du tube digestif des animaux avec des souches probiotiques à fort pouvoir inhibiteur plutôt que de laisser s'installer naturellement une flore lactique quelconque apportée par l'environnement ainsi, la microflore complexe exerce une action protectrice contre la colonisation des pathogènes de type *E. coli*, *Salmonella* et *Campylobacter*.

On cite quelques études mettant en évidence cette efficacité :

- L'administration de la souche J96 d'*Enterococcus faecium* isolée de l'intestin d'une poule à des poussins de 30h réduit la croissance de *Salmonella pullorum*, *gallinarum*, Typhimurium et Enteritidis *in vitro* (Audisio et al., 2000 cité par Van immerseel, 2003).
- L'administration de *Lactobacillus salivarius* A23 à des poussins nouvellement éclos permet d'augmenter le poids et de diminuer le taux de pathogènes (coliformes) et d'augmenter le taux des lactobacilles dans le jabot dès le premier jour d'administration (Zacconi et al., 1999).

b. Efficacité zootechnique :

L'efficacité zootechniques revendiquée des probiotiques chez l'animal est souvent par l'amélioration de la croissance (GMQ), de l'indice de consommation (IC) et de l'état sanitaire voire du bien-être des animaux établis par la réduction de la fréquence des diarrhées ou de la mortalité durant certaines phases critiques d'élevage : stress alimentaires (changement de régime alimentaire, rations riches en concentrés), stress sanitaires (densité des animaux,...). Concernant la productivité, les données publiées font apparaître une variabilité importante de la réponse animale pour le GMQ et pour l'IC, la réponse relative étant d'autant plus marquée que les conditions nutritionnelles et sanitaires sont médiocres (Edens, 2003).

Parmi les nombreuses expériences qui confirment ces dires on cite :

- L'addition d'un probiotique à base d'*Enterococcus faecium* M-74, à l'eau de boisson (3g/100l) des poussins durant 6 semaines améliore la croissance des animaux de 10,8% par rapport au lot témoin (Kralik et al., 2004).
- Une supplémentation par *Saccharomyces cerevisiae* sur des poussins (4,108UFC) a réduit significativement le taux de mortalité dans le lot traité (Karaoglu et Dardug, 2005).
- L'addition de jus de rumen lyophilisé augmente le poids du poulet de chair et améliore la conversion (Kuçukersan et al., 2002).

1.1.6. Cadres législatifs et réglementaires des probiotiques :

Les lois et règlements qui entourent la production et l'usage des probiotiques sont variables d'un pays à l'autre et il n'existe actuellement pas de statut particulier pour les

probiotiques. Au niveau européen, ils peuvent être considérés selon plusieurs points de vue (Biard, 2016) :

- Médicaments lorsqu'ils disposent d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) ;
- Compléments alimentaires ou additifs d'un aliment (tel qu'une préparation pour nourrissons), disposant éventuellement d'une allégation santé ;
- Composants d'aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales (ADDFMS) lorsqu'ils sont employés dans le cadre d'un régime alimentaire particulier, soumis à contrôle médical ;
- Dispositifs médicaux (DM) s'ils bénéficient du marquage CE.

1.2. Les prébiotiques :

1.2.1. Définition des prébiotiques :

L'alimentation a un impact très important sur la flore intestinale, soit par l'apport des bactéries exogènes, soit par une modulation exercée par les nutriments. Les prébiotiques sont des substances alimentaire, indigestibles qui stimulent de manière sélective la croissance ou l'activité d'une population microbienne bénéfiques qui peut contribuer à l'amélioration de la santé de l'hôte. Les prébiotiques sont généralement composés de fibres, polymères glucidiques tels que les oligosaccharides (Nyman, 2002). De telles molécules sont présentes naturellement dans l'alimentation. Les galactooligosaccharides retrouvés dans le colostrum et le lait maternel possèdent un effet bifidogène reconnu (Coppa *et al.*, 2004).

Dans le terme prébiotique le préfixe « pro » a été remplacé par « pré » pour exprimer un «après » ou « pour » ,Le concept de prébiotique a été formalisé en 1995 par Gibson et Roberfroid dont les prébiotiques diffèrent des probiotiques par leur nature inerte et par le fait qu'ils modulent la flore intestinale sans l'apport de bactéries exogènes. Les prébiotiques ont également un aspect de modulation des activités métaboliques microbiennes influençant la physiologie de l'hôte à travers des activités enzymatiques ou la production de métabolites actifs , par suite les auteurs ont évolué leur définition initiale de la façon suivante: « les prébiotiques sont des ingrédients alimentaires fermentés de façon sélective qui induisent des modifications spécifiques à la fois dans la composition et l'activité de la microflore gastro-intestinale et qui favorisent le bien-être et la santé de l'hôte» (Roberfroid, 2007).

1.2.2. Critères de sélection des prébiotiques :

- Un produit sera classer comme prébiotique dès qu'il répond aux trois conditions :
- Etre ni hydrolysé, ni absorbé dans le tractus gastro-intestinal.
 - Etre sélectif pour un nombre limité des bactéries endogènes.

- Eventuellement inhiber la croissance et atténuer la virulence des pathogènes, et induire des effets systémiques potentiellement bénéfiques pour la santé.

(Suskovicet *al.*, 2001 ; Ferket, 2002 ; Fooks et Gibson, 2002 ; Gibson *et al.*, 2004).

a- L'indigestibilité

Compte tenu de leur structure chimique, de nombreux oligosaccharides répondent au premier critère d'indigestibilité. L'indigestibilité des fructooligosaccharides (FOS) et de l'inuline, les mieux connus parmi les prébiotiques, a été vérifiée *in vivo* (Chonanet *al.* 2001 ; Bouhniket *al.*2004 ; Cani, 2009 ; Saad *et al.* 2013) et *in vitro* (Gilliland, 2001 ; Gibson *et al.*, 2004 ; Ricardo *et al.*, 2009 ; Morais *et al.*, 2014). Les xylooligosaccharides (XOS) sont également indigestes, car aucune enzyme digestive ne peut les dégrader (Madhukumar &Muralikrishna, 2010).

Ces observations sont en accord avec la spécificité connue des enzymes digestives des mammifères (α amylase, enzyme pancréatique et différentes hydrolases du tube digestif) qui sont incapables de digérer les fructanes (Carabin &Flamm, 1999; Cummings *et al.*, 2001). Tout nouveau prébiotique supposé devrait en fait être testé au moins *in vitro* quant à sa résistance au jus gastrique, aux enzymes pancréatiques et à celles de la bordure en brosse (Saad *et al.*, 2013).

b- La fermentescibilité des prébiotiques :

Tout glucide qui atteint le caecum est un substrat de fermentation potentiel pour la microflore du gros intestin. De nombreux résultats confirment que c'est, en effet, le cas des substances à statut prébiotique reconnu telles que l'inuline et les FOS (Kleessenet *al.*, 2001 ; Gibson *et al.*, 2004 ; Liu *et al.*, 2014).

Les premières études menées sur des FOS de 2 à 4 résidus de fructose ont montré qu'ils étaient fermentés par les bifidobactéries; alors qu'à l'inverse, *E. Coli* et *Clostridium perfringens* utilisent peu les FOS (Hidaka, 1986 ; Mitsuokaet *al.*, 1987).

Les bacteroïdes sont capables de fermenter différents prébiotiques. Gibson (1994) a mis en évidence un phénomène de compétition pour la fermentation d'oligofructoses par *Bifidobacterium infantis*, *E. coli* et *Clostridium perfringens* en co-culture. Les bifidobactéries manifestent un effet inhibiteur à l'égard des deux autres.

Les fructo- et les xylo-oligosaccharides XOS sont fermentescibles par de nombreuses espèces bactériennes; alors que très peu d'entre elles sont capables de dégrader les arabinoxylanes. Ce même auteur rapporte que les oligosaccharides linéaires sont mieux catabolisés que ceux à chaîne ramifiée.

Les bifidobactéries utilisent préférentiellement les oligosaccharides de faible degré de polymérisation (DP), alors que les Bacteroïdes utilisent ceux à fort DP. Une «symbiose»

métabolique liée à la structure de ces glucides existe certainement entre ces deux genres bactériens. Dans le même esprit, en 2001, Rycroft et Gibson ont publié une étude comparée de l'évaluation *in vitro* des propriétés fermentescibles de différents oligosaccharides commerciaux à statut prébiotique en utilisant des bactéries fécales. Cette étude présente l'intérêt de pouvoir identifier le meilleur prébiotique pour une modulation souhaitée du profil de la microflore.

Ainsi, d'après ces auteurs, si l'on souhaite accroître le nombre de bifidobactéries, il faut faire appel à des XOS ou au lactulose comme prébiotique.

c- La modification de la microflore intestinale en améliorant sa composition :

Un produit prébiotique doit permettre d'obtenir une réduction quantitative de la flore intestinale. Les produits testés doivent pouvoir être métabolisés par des bactéries commensales de l'intestin. Les bactéries pathogènes sont incapables d'utiliser les FOS donc l'environnement devient plus favorable à la croissance des bactéries utiles.

1.2.3. Dose et sécurité :

La dose de prébiotiques ingérée quotidiennement n'induit des effets que de façon faiblement dose-dépendante, généralement liés au sujet et à la quantité de bifidobactéries présentes dans la flore fécale avant le début du traitement (Roberfroid, 2007).

L'ingestion de prébiotique suit à la fermentation dans le côlon peut provoquer des désordres tels que des flatulences, des douleurs abdominales et des diarrhées osmotiques. Ces désagréments restent cependant limités et liés à une consommation excessive plutôt qu'à la nature du prébiotique. L'ingestion de 10 g à 20 g d'oligofructose est considérée comme étant dépourvue d'effets secondaires. Lorsque cette dose est portée de 31 g à 41 g, certains des symptômes décrits ci-dessus peuvent survenir (Absolonneet *al*, 1995).

Tableau3.4 : Les prébiotiques, leurs structures et leurs sources.

Prébiotique	Structure	source	effet	Réf
Polysaccharides Prébiotiques				
Fructooligosaccharides (FOS)	α -D-Glu [-(1→2)- β -D-Fru] n, n = 2-4	Transfructosylation de Sac par β -Fru	B↑, P↓	[A] [B] [C]
Oligofructose	[α -D-Glu -] m β -D-Fru [-(1→2) - β -D-Fru] n, m = 0-1, n = 1-9	L'hydrolyse enzymatique de l'inuline	B↑, P↓	
Inuline	α -D-Glu [-(1→2)- β -D-Fru] n, n = 10- 60	Chicorée	B↑, P↓	
Galactooligosaccharides, Trans-galactosyloligosaccharides (TOS)	α -D-Glu-(1→4)- β -D-Gal [-(1→6)- β -D-Gal] n, n = 1-4	Transgalactosylation de lac par β -Gal	B↑, P↓	
Raffinose (n = 1) et stachyose (n = 2)	[α -D-Gal -(1→6)-] n α -D-Glu -(1→2)- β -D-Fru, mit n = 1-2	Graines de soja	B↑	
Oligosaccharides, indigestible mais fermentescible dans le côlon				
Lactulose	β -D-Gal -(1→4)- β -D-Fru	Lac (isomérisation alcaline de Glu)	B↑,P↓, PM↓	[D] [E] [F]]
Lactosucrose	β -D-Gal -(1→4)- α -D-Glu -(1→2)- β -D-Fru	Lac + Sac (transfructosylation de β -Fru)	B↑	
Glucooligosaccharides (GOS)		Sac + Mal (transglucosylation de GIT)	B↑, nnE↓	
Xylooligosaccharides (XO)	β -Xyl [-(1→4)- β -Xyl] n, n = 1-8	Mais	B↑,	
Gentiooligosaccharides	β -D-Glu [-(1→6)- β -D-Glu] n, n = 1-4	Sirop de glucose (transglycosylation enzymatique)	B↑	
Isomaltooligosaccharides (IMO)	α -D-Glu [-(1→6)- α -D-Glu] n, n = 1-4	Hydrolyse de l'amidon (α -Amy→ β -Amy + α -Glase)	B↑	
Maltooligosaccharides	α -D-Glu [-(1→4)- α -D-Glu] n, n = 1-6	Hydrolyse de l'amidon (Iso-Amy + α -Amy)	p ↓	
Cyclodextrines	[α -D-Glu-(1→4) -] n, cyclic, n = 6-12	Hydrolyse de l'amidon (CmGt)	Atb	
Chito-oligosaccharides	[β -GluNAc -(1→4)-] n	Chitine (crustacés)	B↑,	
Polysaccharides comme l'amidon, les hémicelluloses, les pectines et les gommages sont non digestibles mais fermentescibles				

Abbréviations : Glu = glucose, Fru = fructose, Gal = galactose, Xyl = xylose, Sac = saccharose, β -Gal = β -galactosidase, β -Fru = β -fructofuranosidase, GIT = glucosyltransférase, α / β / Iso-Amy = α / β / Iso-amylase, + α -Glase = α -Glucosidase, CmGt = Cyclomaltodextrine-Gluconotransférase, B ↑ = bifidogène, P = bactéries de putréfaction / pathogènes, PM = métabolites de putréfaction, nnE = entérocolite nécrasante néonatale, Atb = antimicrobien.

[A] G. Kelly, "Inulin-type prebiotics: A review (part 1)," Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic, vol. 13, pp. 315-329, 2008.

- [B] M. Roberfroid, "Prebiotics: the concept revisited.," *The Journal of nutrition*, vol. 137, no. 3 Suppl 2, p. 830S–7S, 2007.
- [C] G.-B. Kim, Y. M. Seo, C. H. Kim, and I. K. Paik, "Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers.," *Poultry science*, vol. 90, no. 1, pp. 75–82, Jan. 2011.
- [D] L. A. Dieleman, M. S. Goerres, A. Arends, D. Sprengers, C. Torrice, F. Hoentjen, W. B. Grenther, and R. B. Sartor, "Lactobacillus GG prevents recurrence of colitis in HLA-B27 transgenic rats after antibiotic treatment," *Gut*, vol. 52, no. 3, pp. 370–376, 2003.
- [E] A. A. Guerra-Ordaz, G. González-Ortiz, R. M. La Ragione, M. J. Woodward, J. W. Collins, J. F. Pérez, and S. M. Martín-Orúe, "Lactulose and Lactobacillus plantarum, a potential complementary synbiotic to control postweaning colibacillosis in piglets.," *Applied and environmental microbiology*, vol. 80, no. 16, pp. 4879–86, Aug. 2014.
- [F] F. Gaggia, P. Mattarelli, and B. Biavati, "Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 141, no. SUPPL., pp. S15– S28, 2010.

1.2.4. Classification des prébiotiques :

A- Les hexoses :

Telles que le fructose, glucose, galactose, mannose et les pentoses tels que le ribose, xylolose et arabinose sont les monosaccharides prébiotiques les plus importants .le galactose est disponible sous forme de disaccharides tels que le lactose .cependant le monosaccharide le plus souvent utilisé comme prébiotique est le mannose.

B- Les disaccharides naturels :

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

C- Les oligosaccharides :

Au cours des deux dernières décennies, beaucoup d'études ont porté sur la production d'oligosaccharides comme ingrédients alimentaires pouvant procurer un état de bien-être et de santé chez le consommateur. C'est pourquoi, une attention particulière est attribuée à des types spécifiques de prébiotiques qui sont non carcinogène, indigestibles, de faible pouvoir calorique et stimulateur du développement du microbiote gastro-intestinal (Mussamatto&Mancilha, 2007). Sont produits la plupart de temps par synthèse ou par hydrolyse enzymatique, soit à partir des hexoses mono-saccharidiques, soit par fermentation de polysaccharides.

Plusieurs familles d'oligosaccharides ont été testées par méthodes *in vitro* et sur des modèles animaux et humains. On peut classer les prébiotiques en deux grands groupes : les prébiotiques connus, dont certains sont commercialisés, et les prébiotiques émergents.

a- Prébiotiques connus :

○ **Fructooligosaccharides et inuline**

Les Fructooligosaccharides sont des oligomères de D-fructose associés par des liaisons β -(1→2) avec un résidu D-glucose en bout de chaîne lié en α -(1→2). Ils sont obtenus par réaction d'hydrolyse enzymatique de l'inuline, mais ils ont également été synthétisés par transfert de résidus fructosyl de molécules de saccharose par voie enzymatique.

Les FOS existent à l'état naturel chez un certain nombre de plantes dont l'oignon, la chicorée, l'artichaut, l'ail, le topinambour et l'endive (Cherbut, 2003). La génistéine est l'isoflavone principale contenue dans le soja. Elle empêche *in vitro* la croissance des cellules cancéreuses. La génistéine est dégradée par la microflore de l'intestin humain, entraînant une perte de son action anticancéreuse. Des échantillons fécaux ont été prélevés chez des sujets volontaires sains et ont été fermentés *in vitro* en présence d'isoflavones de soja, additionnées ou non de fructo-oligosaccharides (FOS). La dégradation de la génistéine a été respectivement de 22, 24 et 26 % au cours des trois essais, en présence de FOS. En revanche, en l'absence de FOS, la dégradation de la génistéine était de 67, 95 et 93 % au cours des trois essais. L'addition de FOS a donc préservé la génistéine *in vitro*. L'utilisation de FOS a en même temps permis l'augmentation significative de la quantité de bactéries lactiques, notamment des bifidobactéries et des lactobacilles.

L'inuline est le plus important des polysaccharides naturels et abondamment présente dans les racines de chicorée à partir desquelles elle est extraite industriellement. On la trouve aussi dans les artichauts, les asperges, les topinambours, le blé, les oignons, l'ail, le poireau et la banane.

L'inuline est un mélange d'oligo- et de polysaccharides essentiellement composés de fructose. C'est un fructane dont la liaison β (2-1) qui unit les radicaux fructosyl entre eux n'est pas hydrolysable par les enzymes digestives de l'homme. Elle l'est, au contraire, par l'enzyme β fructosidase, présente chez les bifidobactéries (Quigley, 2010).

Ce sont les prébiotiques les plus étudiés et leur aptitude à stimuler la croissance de *Bifidobacterium* a été établie par de nombreuses études tant *in vitro* que *in vivo*. Ils ont été testés sur des co-cultures à pH contrôlé, où ils induisent non seulement une stimulation de la croissance de *Bifidobacterium infantis* mais aussi inhibent celle d'*Escherichia coli* et de *Clostridium perfringens*. Toujours en test *in vitro*, leur effet bifidogène a été mis en évidence sur des systèmes bactériens complexes simulant la diversité microbienne de l'intestin humain.

Une étude récente, publiée par ROSSI (2005), fait état d'une comparaison de la fermentation de FOS et d'inuline en cultures pures et inoculum fécal. Cinquante-cinq souches de bifidobactéries ont été testées, la plupart sont capables de fermenter les FOS, mais seulement huit d'entre elles se développent bien sur l'inuline. En culture sur inoculum fécal, les FOS et l'inuline affectent la production d'acide gras à chaîne courte, le butyrate est le produit majeur de fermentation de l'inuline, alors que ce sont l'acétate et le lactate qui sont majoritairement produits avec les FOS (GENESTIE, 2006).

- **Galactooligosaccharides**

Également connus sous les noms d'oligogalactosyllactose, oligogalactose, oligolactose ou de transgalactooligosaccharide (TOS). Ce sont des oligomères de la forme $\text{Glc } \alpha\text{-(1}\rightarrow\text{4)-}[\beta\text{-(1}\rightarrow\text{6) Gal}]_n$, avec n de 2 à 5. Ils sont naturellement présents dans le lait mais également obtenus par conversion enzymatique du lactose et leur composition varie selon la longueur de la chaîne et le type de liaison entre les unités monomères (Gibson, 1998 ; Roberfoid, 2000).

Les (TOS) augmentaient le nombre de bifidobactéries et de lactobacilles mais en outre diminuaient le nombre d'entérobactéries (GENESTIE, 2006). Chez les nourrissons, l'utilisation des galactooligosaccharides a montré qu'ils ont un rôle potentiel dans la prévention des allergies et la réduction des maladies infectieuses (Arslanoglu *et al.*, 2008 ; Bruzzese *et al.*, 2009), des symptômes de dysfonctionnement gastro-intestinal et de la durée de l'état grippal (Hughes *et al.*, 2011).

- **Lactulose**

C'est un disaccharide synthétique formé de galactose et de fructose liés en $\beta\text{-(1}\rightarrow\text{4)}$ dérivé du lactose. Il est connu pour ses effets laxatifs lorsqu'il est pris à fortes doses (supérieures à 20g par jour). En revanche, à plus faibles doses, il agit en tant que prébiotique en augmentant le nombre de bifidobactéries alors que le nombre de *Clostridium perfringens*, de Bactéroïdes, de Streptocoques et d'entérobactéries décroît (Salminen&Salminen, 1997). Il est utilisé dans divers produits alimentaires (lait maternisé, aliments pour bébés, confiserie, boissons gazeuses, produits laitiers) et pharmaceutiques (traitement des hémorroïdes, la constipation chronique, l'encéphalopathie hépatique) (Paik *et al.*, 2005).

- **Les pectines :**

Les substances pectiques sont des polysaccharides complexes présents en grande quantité dans les fruits des Dicotylédones et caractéristiques des espaces intercellulaires (Bruneton, 2009). Elles proviennent de la lamelle et de la paroi des cellules des végétaux supérieurs. Elles servent de ciment intercellulaire. Elles constituent également la peau des fruits (orange : 30% ; pomme : 15% ; oignon: 12%) (Bouquelet, 2008). Ce sont des

polygalacturonanes très hydrophiles qui constituent la matrice au sein de laquelle on retrouve les fibres de cellulose de la paroi (Bouquelet, 2008). La structure des pectines comporte une chaîne principale d'unités acide uronique liées en 1-4 et régulièrement intercalées (liaisons 1-2 et 1-4) par des unités rhamnose pour former des coudes. Cet agencement donne des propriétés particulières aux pectines telles que la stabilité chimique et la résistance à des températures supérieures à 100°C. Certains microorganismes producteurs de pectine lyase sont pectinolytiques.

Les pectines sont abondantes dans les fruits charnus immatures. D'abord insolubles, elles assurent une certaine rigidité aux tissus, puis sont dégradées en sucres et en acides au cours du mûrissement. Elles sont obtenues par extraction à partir de pulpe résiduelle de citrons et de pommes. L'acide pectique est insoluble dans l'eau et l'hydrosolubilité augmente avec l'accroissement du degré de polymérisation (Bruneton, 2009).

b- Prébiotiques émergents :

Plusieurs causes sont à l'origine du développement de nouveaux prébiotiques : tout d'abord les progrès réalisés dans les processus de production puis les développements des biotechnologies et de la génétique moléculaire et par la suite la recherche de diversification des voies de valorisation de certains produits naturels, déchets de l'agriculture. Parmi les prébiotiques émergents on peut citer : les isomaltooligosaccharides (IMO), les oligosaccharides de soja (SOS) et les xylooligosaccharides (XOS). On ajoutera, dans une moindre mesure en termes de travaux d'expertise, les glucooligosaccharides et les pectioligosaccharides. Il a également été avancé que les amidons résistants pouvaient entrer dans cette catégorie (GENESTIE, 2006).

o Isomaltooligosaccharides (IMO)

Ils sont constitués de résidus glucose liés en α -(1→6). Leur production industrielle fait appel à l'action d' α -amylase, de pullulanases et d' α -glucosidases sur l'amidon de maïs. Tous les IMO testés sur des cultures bactériennes pures induisent un accroissement de la plupart des bifidobactéries à l'exception de *Bifidobacterium bifidum*. RYCROFT en 2001 a montré qu'avec les IMO de DP moyen égal à 2, le nombre de bifidobactéries augmentait après 24h de culture en batch ainsi que la concentration en acide lactique et lactate.

Les résultats d'études in vitro réalisées avec des produits commerciaux vont dans le même sens quant à l'effet bifidogène, mais une légère augmentation des Bacteroïdes est également observée (GENESTIE, 2006).

- **Oligosaccharides de soja (SOS)**

Les deux principaux oligosaccharides extraits du soja sont le trisaccharide raffinose et le tétrasaccharidestachyose, ils sont constitués de résidus glucose, galactose et fructose. Les tests in vitro et in vivo conduisent au même constat d'un effet bifidogène, avec dans certains cas une décroissance concomitante non seulement des Bactéroïdes et *Clostridium* mais aussi de certains métabolites toxiques (GENESTIE, 2006).

- **Xylooligosaccharides (XOS)**

Les XOS sont constitués de formes oligomériques de résidus xylose liés en β -(1-4), et comportent également les arabinoxylyanes (AXOS) qui peuvent être eux-mêmes différemment substitués selon l'origine et les procédés d'obtention. Les XOS sont essentiellement obtenus par hydrolyse des hétéroxylanes constituant les parois cellulaires végétales, en particulier celles des céréales comme les sons d'avoine et de blé (Madhukumar & Muralikrishna, 2010).

Les aliments à base de son d'avoine ont fait l'objet de plusieurs investigations, particulièrement en raison de leur contenu en β -glucanes, éléments structuraux d'une fibre soluble présente en grande quantité dans cette céréale. Ces fibres favorisent l'excrétion fécale du cholestérol en diminuant sa synthèse hépatique, ce qui contribue à une réduction significative, de la cholestérolémie par un mécanisme d'action probablement lié à la viscosité du β -glucane, qui interférerait avec la réabsorption des acides biliaires (Truswell, 2002).

L'une des activités les plus importantes des XOS est leur effet bifidogène.

Ils semblent encore mieux répondre que les FOS et les IMO au tout premier critère de définition d'un prébiotique, à savoir sa non digestibilité. En effet ils ne sont pas du tout dégradés par aucune enzyme digestive alors que certains FOS et la plupart des IMO subissent une digestion partielle dans l'intestin grêle.

- **Les lipides et les protéines :**

On peut considérer certains peptides, protéines et lipides comme des prébiotiques, conférant un caractère d'indigestibilité grâce à leur structure chimique (Cherbut, 2003).

Les peptides courts sont des candidats prébiotiques hydrosolubles pouvant former des structures plus ou moins stables avec les ions Mg^{2+} (Guliket *et al.*, 2009 ; Garcia *et al.*, 2014). Certains acides gras pourraient avoir aussi les mêmes propriétés en modifiant positivement l'équilibre du système gastro-intestinal au profit des bactéries bénéfiques comme les probiotiques. Parmi ces acides gras, les acides linoléiques conjugués (ALC) et plus précisément les deux isomères 18:2 cis-9, trans-11 et 18:2 trans-10, cis-12, sont associés à une multitude d'effets bénéfiques pour la santé comme une activité anti-térogène, une activité anti-adipogénique (Racine *et al.*, 2010), une activité anti-inflammatoire (Bassaganya-Riera *et*

al., 2012), une activité antidiabétique (Rubin *et al.* 2012) et enfin une activité anticancérogène (Białek and Tokarz, 2013).

- **Les sons des céréales :**

Les sons de céréales sont des coproduits de minoterie représentant avec la farine et le germe, l'une des trois fractions de la mouture. Selon les conditions de broyage, le son est issu des parties externes du grain, alors que la farine et le germe proviennent respectivement de l'endosperme et de l'embryon.

Le son est constitué du péricarpe qui regroupe les enveloppes périphériques : un tégument séminal qui correspond à l'enveloppe de la graine et une couche à aleurone qui se situe entre l'endosperme et les enveloppes périphériques. Le son est de plus généralement contaminé par des fragments d'endosperme qui ne se sont pas détachés lors du broyage.

Le son de blé contient de nombreux éléments nutritifs (vitamines et minéraux). Il est riche en fibres alimentaires (hémicellulose, cellulose), protéines, vitamines (surtout du groupe B) et sels minéraux (calcium, magnésium, phosphore) (Gullonet *al.*, 2014).

Le son de blé est composé majoritairement de fibres cellulosique insoluble, aide à la digestion or que la perte de poids. Il aussi permet de réduire le taux de cholestérol.

Le son d'avoine renferme des protéines et des minéraux comme le manganèse, le magnésium, le fer et le sélénium, et il est considéré comme une bonne source de vitamines (vitamine B1 et B5) (Marlettet *al.*, 2002).

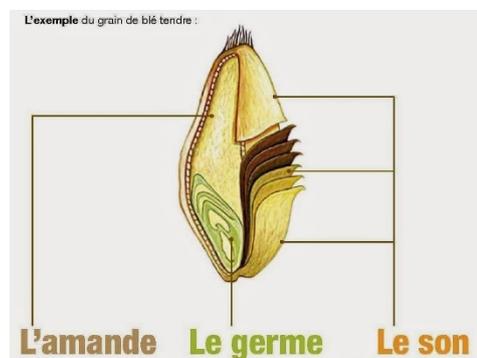


Figure3.9 : Illustration d'un grain de blé.

- **Les légumes comme source de prébiotiques :**

- **La chicorée :**

C'est un légume appartenant à la grande famille des astéracées. Le genre *Cichorium* comprend deux espèces cultivées (figure10) : *Cichoriumintybus* et *Cichoriumendivia*. Ses vertus thérapeutiques sont concentrées dans les parties aériennes récoltées avant l'ouverture des fleurs, dans les racines et parfois, dans les graines récoltées à l'automne. On la retrouve

dans diverse préparation traditionnelle telle que sirops vermifuges. On l'a souvent utilisée pour des cures printanières de nettoyage de l'organisme.

Riche en fibres et en minéraux, la chicorée favorise le transit et contribue à l'équilibre de la flore intestinale. Elle contient du phosphore, du magnésium, du potassium et beaucoup de fer. C'est pourquoi elle est recommandée pour combler la carence en ce minéral durant la grossesse. Considérée comme une plante tonique et fortifiante, elle permet d'améliorer la santé générale de l'organisme. Grâce à sa concentration en principes amers, elle favorise la digestion et stimule l'appétit.

Les principes actifs d'intérêt présents dans ces légumes sont les composés phénoliques, les caroténoïdes et les fructanes. Les phénols et les caroténoïdes sont de puissants antioxydants. La quercétine et le kaempférol sont les principaux flavonoïdes de la chicorée. Elle contient aussi des acides phénoliques (les acides féruliques et caftarique) (Arabbietal., 2004).

La consommation d'aliments riches en caroténoïdes serait reliée à un risque moindre de développer certains cancers. La chicorée sauvage, crue ou cuite, contient des quantités intéressantes de lutéine et de bêta-carotène (Stahl & Sies, 2005).

En revanche, elle ne remplace pas les probiotiques. Elle ne fait que faciliter le développement et l'équilibre de la flore intestinale.

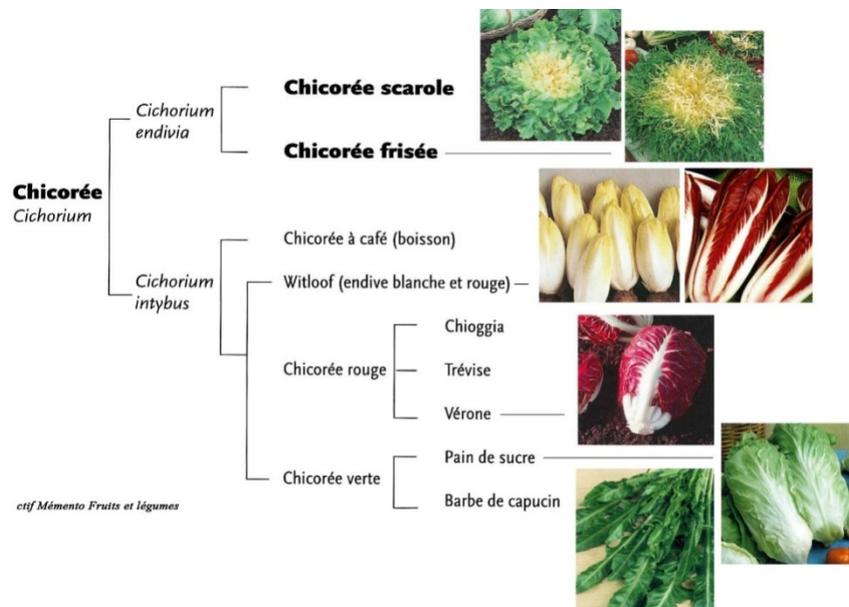


Figure 3.10 : Variétés de chicorée.

(<http://biologie.enslyon.fr/ressources/Biodiversite/Documents/la-plant-du-mois/chicoree-et-endive.2012>)

– **L'artichaut :**

(*Cynarascolymus*) est également un légume riche en polyphénols l'un des aliments les plus riches en fibres, solubles et insolubles, ce qui le rend efficace pour réguler le transit,

prévenir la constipation, réduire le risque de cancer du côlon et réguler l'appétit. Il renferme aussi de l'inuline; une fibre soluble particulièrement intéressante. Elle favorise la croissance des bactéries bénéfiques de l'intestin (bifidobactéries) et un excellent prébiotique en rééquilibrant microbiote, pierre d'angle de notre santé et de notre immunité, et en améliorant l'absorption de certains nutriments. Certaines études suggèrent aussi une action bénéfique de l'inuline pour réguler les lipides sanguins ou contrôler la glycémie, ce qui pourrait être utile pour prévenir le diabète de type 2. Chez certaines personnes, cette fibre peut en revanche être responsable de flatulences ou de ballonnements.

Tableau3.5 : Contenu (en % : P/P) en fibres prébiotiques de quelques végétaux à consommation courante (Alanna *et al.*, 1999).

Alimentation	Fibres en % (P/P)
chicorée crue	64,6
topinambour cru	31,5
pissenlit vert cru	24,3
ail cru	17,5
poireaux crus	11,7
oignon cru	8,6
oignon cuit	5
asperges crus	5
Le son de blé cru	5
Le total de la farine de blé	4,8
Banane	1

1.2.5. Mécanismes d'action des prébiotiques:

Les prébiotiques peuvent influencer l'organisme de deux façons, ils peuvent être utilisés de manière indirecte comme substrat pour certaines bactéries commensales et les produits de cette fermentation ce qui permet d'augmenter la production de certains acides organiques et acides gras volatils qui peuvent ensuite influencer les différents processus moléculaires et cellulaires des tissus de l'hôte (Roberfroid, 2007).

De nouvelles recherches suggèrent que les prébiotiques peuvent agir de manière directe en se fixant sur les récepteurs des cellules cibles.

A- Les effets indirects des prébiotiques sur l'organisme :

Les prébiotiques ne sont pas des organismes vivants mais les nutriments servant de «nourriture» aux probiotiques (flore intestinale bénéfique) (Roberfroid, 2001). En ingérant des fibres prébiotiques spécifiques, on peut ainsi favoriser la multiplication et l'activité des

microorganismes bénéfiques pour l'hôte, la production d'acides gras à chaîne courte exerce plusieurs effets bénéfiques sur la santé. Par exemple, les prébiotiques contribuent à rendre le microbiote intestinal plus sain, car ils stimulent la production de bifidobactéries et de lactobacilles et inhibent la croissance des populations de bactéries pathogènes en réduisant le pH fécal par la production d'acides gras à chaîne courte (Carlson *et al.*, 2018 ; Voreadeset *al.*, 2014) Ils favorisent également la maturation du système immunitaire et améliorent l'immunité en renforçant la fonction de la barrière intestinale. Un acide gras à chaîne courte, le butyrate, est particulièrement bénéfique, en raison de ses propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes et anti-carcinogènes dans le côlon (Slavin, 2013). Les prébiotiques remodelent l'homéostasie microbienne de l'intestin en augmentant la sécrétion d'AGCC par le microbiote. En particulier l'acétate et le butyrate améliorent la tolérance orale et protègent de l'allergie alimentaire en augmentant l'activité rétinale déshydrogénase des DC CD103+. Cette protection dépend de la vitamine A présente dans l'alimentation. Ce régime alimentaire stimule également la production d'IgA impliquées dans la tolérance. Les souris dépourvues du GPR43 ou du GPR109A, récepteurs pour les AGCC, présentent une allergie alimentaire exacerbée et moins de DC CD103+. À côté de ces sucres à petites chaînes, des polymères de grande taille comme la gomme d'acacia sont aussi considérés comme prébiotiques. En effet la gomme d'acacia est une fibre qui stimule la prolifération des bactéries productrices d'acide lactique *in vitro* et augmente la concentration fécale des bifidobactéries chez l'homme sans affecter les concentrations des anaérobies totaux.

B- Les effets directs des prébiotiques sur l'organisme :

a- La modulation du microbiote:

Les prébiotiques sont principalement connus pour leur impact sur la modulation du microbiote intestinal. Plus que la composition, c'est surtout le nombre de bactéries qui est modifié. Il est admis que les bactéries des taxons *Lactobacille* et *Bifidobacterium* sont significativement plus représentés à des doses moyennes de 5- 8 grammes/jour de prébiotiques. L'expansion des bactéries bénéfiques empêche l'implantation des bactéries pathogènes et réduit le nombre de certaines bactéries commensales par effet de compétition (Slavin, 2013 ; Vandeputteet *al.*, 2017). Hopkins et son équipe ont montré que la croissance des Bifidobactéries suite à la consommation de prébiotiques est corrélée avec une diminution de la population de *Clostridium difficile* (Vandeputteet *al.*, 2017). Dans un deuxième temps, les bactéries vont également augmenter leur production de peptides antimicrobiens empêchant la colonisation de l'épithélium intestinale par les pathogènes (Kawai ,2011).

b- L'interaction avec les cellules épithéliales :

Lors de l'ingestion de prébiotiques, les oligosaccharides pénètrent dans l'intestin. Ils entrent alors en contact direct avec les cellules épithéliales. Lors de l'étude *in vitro* de l'effet anti-inflammatoire des prébiotiques sur des lignées d'entérocytes, Zenhomet *al.*, ont mis en évidence la fixation des oligosaccharides aux récepteurs «peptidoglycane recognition protein (PGIYRP)». Cette liaison inhibe l'expression de cytokines pro-inflammatoires et la translocation du facteur NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) dans le noyau. L'effet anti-inflammatoire est médié par la signalisation de PPAR γ qui induit l'expression de PGIYRP3 produisant un effet anti-inflammatoire. De plus l'ajout de prébiotiques au milieu de culture augmente la production de cytokine (IL-8) et de chimiokines (CCL1 et CXCL2, CXCL1) par la liaison du TLR4 (Zenhom, 2011). En effet, les cellules épithéliales des souris déficientes en TLR4 ont une réponse nettement diminuée aux prébiotiques. Les prébiotiques sont donc des agonistes du TLR4 (Capitan-Canadas F *et al.* 2014). Une troisième étude a permis de mettre en évidence les interactions entre les cellules épithéliales et les DC via le prébiotique. L'ajout de prébiotique dans le milieu de culture de DC ne modifie pas leur sécrétion. Par contre, l'ajout de surnageant de culture de cellules épithéliales incubées avec des prébiotiques sur des DC augmente le ratio de sécrétion IL-10/IL-12 par les DC. Cela suggère que les prébiotiques induisent des DC tolérogènes et que l'effet immunomodulateur induit par les prébiotiques est médié par les molécules sécrétées par les cellules épithéliales. Les molécules sécrétées par les cellules épithéliales et les DC au contact des prébiotiques jouent aussi un rôle sur la stimulation des lymphocytes T CD4⁺. Les GOS sont capables d'augmenter la sécrétion de l'IL-10 par les T régulateurs. L'inuline quant à elle, diminue la réponse T CD4⁺ de type TH2 (Bermudez-Brito *et al.*, 2015). Dans le cadre d'une étude sur les symbiotiques, De Kivit et ses collègues ont montré que l'ingestion de prébiotiques GOS/FOS seuls ou combinés avec *Bifidobacterium breve* M-16V, induit une sécrétion de galectine-9 par les cellules épithéliales de l'intestin. La sécrétion de galectine-9 diminue la dégranulation des mastocytes et favorise les réponses TH1 et T régulatrice. Cependant à ce jour, les mécanismes d'interaction des prébiotiques avec les DC ou les lymphocytes T ne sont pas bien élucidés (De Kivit *et al.*, 2012 ; De Kivit *et al.*, 2017). L'ensemble de ces études montrent que les prébiotiques peuvent entrer directement en contact avec les cellules de l'épithélium intestinal sans passer par le microbiote. Par la voie de signalisation du TLR4, et des PGIYRP ils induisent une sécrétion de cytokines anti-inflammatoires influençant le profil des cellules avoisinantes comme les cellules immunitaires sous-jacentes. En plus du contact avec les cellules épithéliales, les GOS et FOS sont capables de franchir la

monocouche de cellules épithéliales *in vitro* ce qui indique qu'ils pourraient entrer en contact avec les cellules immunitaires se trouvant dans l'épithélium intestinal et induire potentiellement d'autres effets (Eiwegger *et al.*, 2010).

c- L'interaction avec les cellules du système immunitaire :

Certains prébiotiques semblent être absorbés au niveau de la barrière intestinale et peuvent se retrouver ainsi en contact avec les cellules du système immunitaire circulantes. L'inuline et les FOS induisent la sécrétion d'IL-10, de CCL1 et du TNF α (tumor necrosis factor α) par les monocytes sanguins. Cette sécrétion est due à l'activation de la voie NF- κ B par la liaison du récepteur TLR4 activant la voie des MAPK (mitogenactivated protein kinase) et PI3K (phosphatidylinositol-3-kinases). Au contraire les FOS et l'inuline n'ont pas d'impact significatif sur la sécrétion de cytokines par les lymphocytes T (Fujitani *et al.*, 2007). Sur les DC issus de monocytes sanguins humains, les GOS et FOS induisent une sécrétion d'IL-10 stimulée par la liaison du TLR4. Au contraire, IL-12 n'est pas détectable. L'augmentation de la sécrétion d'IL-10 par les DC va avoir pour conséquence d'induire des lymphocytes T régulateurs (Lehmann *et al.*, 2015). Ces études montrent que les prébiotiques ont un effet anti-inflammatoire sur les DC via la liaison des prébiotiques au TLR4. L'interaction des prébiotiques avec les cellules immunitaires n'est pas totalement comprise, mais il est évident que les prébiotiques peuvent orienter les réponses TH1, TH2 et T régulatrice. Les effets tolérogènes et la modulation de flore commensale suite à l'ingestion de prébiotiques est encourageante pour prévenir le développement des allergies. Notamment, la mise en place d'une stratégie nutritionnelle contenant des prébiotiques semble une possibilité intéressante à envisager. Plusieurs modèles précliniques et cliniques sont déjà publiés.

1.2.6. Les effets bénéfiques des prébiotiques :

A- L'impact des prébiotiques sur la flore intestinale :

Les prébiotiques les plus utilisés actuellement sont les oligosaccharides (Delzenne, 2003) et les gommes.

Les oligosaccharides sont des oligomères d'hexoses. Ce sont des produits alimentaires avec des propriétés nutritionnelles intéressantes. Ils peuvent être naturellement présents dans la nourriture, surtout dans les fruits, les légumes ou les céréales, ou produits par biosynthèse à partir de sucres ou de polysaccharides naturels et additionnés à des produits alimentaires pour leurs caractéristiques organoleptiques ou leurs propriétés nutritionnelles. L'apport alimentaire en oligosaccharides est difficile à estimer mais il est compris entre 3 à 13 grammes par jour, en fonction notamment de l'âge et de la pratique alimentaire. Les oligosaccharides résistent aux réactions enzymatiques se produisant dans l'estomac et la partie supérieure de l'intestin. Ils deviennent ainsi les

substrats d'espèces bactériennes intestinales capables d'hydrolyser spécifiquement les oligosaccharides en acides gras à chaînes courtes (acétate, lactate, propionate, butyrate) par fermentation. La production d'acides gras à chaînes courtes dans le côlon est un processus dynamique qui varie avec le type d'oligosaccharides, la durée du traitement, la composition initiale de la flore et du régime alimentaire dans lequel ils sont incorporés.

Les effets sur la microflore intestinale de l'absorption de biscuits contenant des fructooligosaccharides (FOS) ont été évalués chez 31 sujets adultes en bonne santé. L'étude s'est déroulée en double aveugle contre placebo. On note que la croissance des *Bifidobacterium* a été significativement augmentée par la consommation de biscuits contenant des FOS, puisqu'on les retrouve en très grande quantité dans les fèces des sujets ayant consommé des biscuits enrichis en prébiotiques (Gibson, 2004).

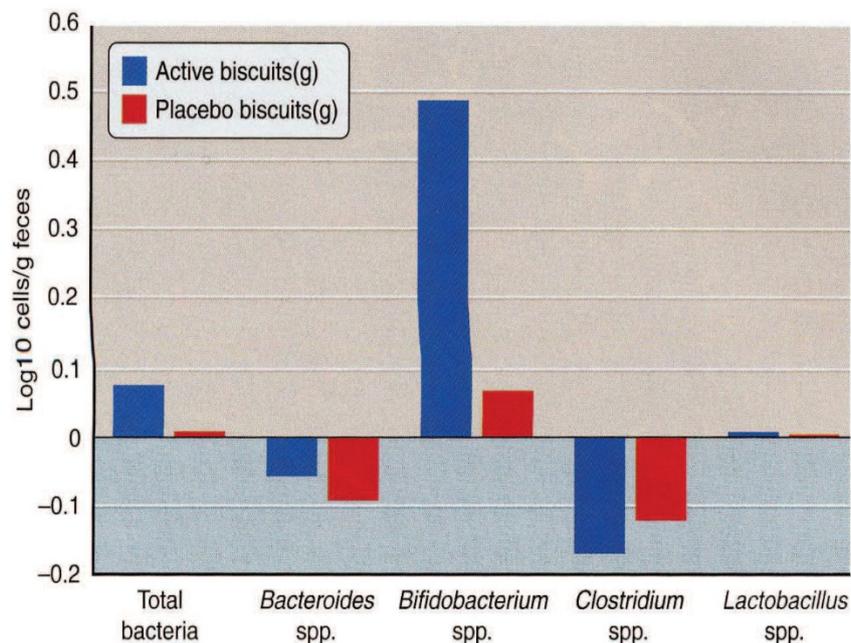


Figure 3.11 : Illustration des effets de biscuits contenant des prébiotiques sur les bactéries prédominantes de la microflore intestinale adaptée de Gibson et Rastall, 2004.

La gomme de guar partiellement hydrolysée (PHGG) est aussi utilisée (Slavin, 2003). C'est une fibre alimentaire soluble dans l'eau. Elle est issue d'une plante *Cyamoposistetragonolobus*, originaire de l'Inde et du Pakistan. Depuis les années 1950, les graines de guar ont été transformées en gomme de guar et sont employées comme additif. Les fibres servent de substrat aux bactéries intestinales anaérobies et génèrent par métabolisation des acides gras à chaînes courtes, qui servent d'énergie aux cellules intestinales. PHGG, comme les autres fibres alimentaires, permet notamment d'augmenter les concentrations en bifidobactéries dans l'intestin. Les bifidobactéries sont capables de réduire le contenu intestinal en lipopolysaccharides et d'améliorer l'intégrité de la muqueuse

intestinale. Les derniers travaux permis de confirmer l'origine et le rôle de la modification sélective de la flore intestinale dans le développement des désordres métaboliques induits par une diète hyperlipidique. En effet, les chercheurs montrés que restaurer le nombre de bifidobactéries de souris ayant reçu une diète hyperlipidique à l'aide de prébiotiques permettait de contrôler l'augmentation des taux de lipopolysaccharides plasmatiques (figure 12). L'augmentation sélective des bifidobactéries est corrélée à une normalisation du tonus inflammatoire, une amélioration de la tolérance au glucose et de la sécrétion d'insuline induite par le glucose (Caniet *al.*,2007). Donc ces dernières données démontrent que la flore intestinale pourrait être une cible intéressante afin de maintenir ou restaurer des fonctions métaboliques normales.

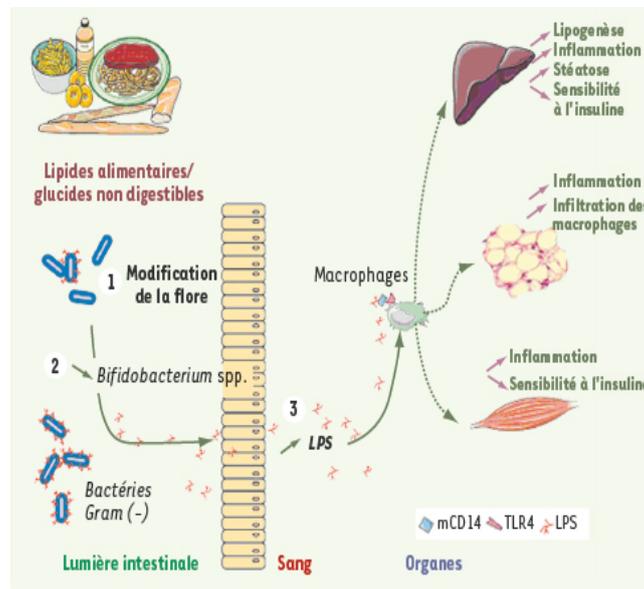


Figure3.12 : Modification de la flore intestinale après ingestion d'une alimentation hyperlipidique et mécanismes associés au développement de l'inflammation, du diabète et de l'obésité. Adaptée de Caniet *al.*, 2007.

La théorie du lipopolysaccharide (LPS). L'ingestion d'une alimentation riche en lipides modifie la composition de la flore intestinale (1), avec plus particulièrement une diminution des bifidobactéries (2). Cette modification de la flore intestinale est associée à une augmentation des taux de LPS plasmatique (3). Le LPS après liaison à son récepteur complexe CD14/TLR4, stimule la synthèse et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires qui participent au développement de l'insulinorésistance. LPS : lipopolysaccharides.

Une modulation de la flore intestinale en faveur des bifidobactéries pourrait aussi être associée à une régulation de la production de peptides intestinaux impliqués dans la gestion de l'appétit, de la sécrétion/sensibilité à l'insuline, de la glycémie et du poids corporel. En effet, l'ingestion de prébiotiques de type fructanes augmente la production endogène de peptides comme le glucagon-like peptide-1 (GLP-1), le glucose-dépendent insulino-tropique peptide

(GIP) et le peptide YY, et diminue les taux plasmatiques d'une hormone orexigène la ghréline (Caniet *al.*, 2005 ; Caniet *al.*, 2006), (Delzenneet *al.*, 2004 ; Delzenneet *al.*, 2005) (Figure3.12).

Les produits du catabolisme bactérien des fructanes - tels que le butyrate - interviennent dans l'augmentation de la production de GLP-1 par les cellules endocrines du côlon. L'impact d'autres métabolites bactériens sur les centres périphériques et hypothalamiques de contrôle de l'appétit pourrait constituer une voie intéressante d'investigation. En peut pas exclure qu'il puisse exister un lien entre le facteur inflammatoire dérivé de la flore intestinale, le lipopolysaccharide et la production endogène de peptides gastro-intestinaux tel que le GLP-1. L'amélioration des paramètres inflammatoires associés à la fois aux modifications de la flore intestinale et aux désordres métaboliques mérite d'être étudiée plus particulièrement.

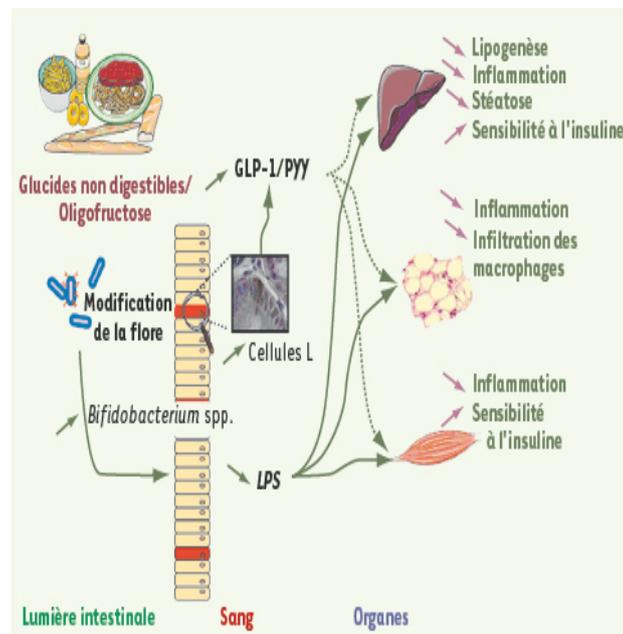


Figure3.13 : Modification de la flore intestinale par les prébiotiques et effets physiologiques. (Rôle des bifidobactéries, et des peptides gastro-intestinaux).

L'ingestion de fibres fermentescibles de types prébiotiques augmente de façon significative et sélective le contenu en bifidobactéries dans l'intestin. Ceci s'accompagne d'une baisse des taux de LPS plasmatiques et d'une diminution de l'inflammation. Par ailleurs, la fermentation des prébiotiques augmente le nombre de cellules L intestinales et leurs produits de sécrétion - GLP-1 et PYY - tous deux impliqués dans la régulation de l'homéostasie glucidique et de la satiété. LPS : lipopolysaccharides ; GLP-1 : glucagon-like peptide-1 ; PYY : peptide YY.

B- La prévention du cancer :

Récemment, par la technique de séquençage métagénomique ou séquençage de l'ARN ribosomal 16S, trois équipes ont indépendamment montré que les patients atteints de cancer

du poumon non à petites cellules, de carcinome rénal ou de mélanome métastatique pouvaient être stratifiés par les critères RECIST2 version 1.1 en «répondeurs» et «non-répondeurs» aux ICI (Les ICI ciblent le répertoire et l'activité des cellules immunitaires de l'hôte et induisent des réponses antitumorales effectrices efficaces) selon la composition de leur microbiote intestinal et l'abondance de certaines bactéries (Le Chatelier *et al.* ;Gopalakrishnan *et al.* ;Matson *et al.*, 2018).

Dans le but de transformer les patients non-répondeurs aux ICI en répondeurs, Matson et ses collègues ont montré que l'administration d'un prébiotique, l'extrait de canneberge (ou grande airelle rouge), à des souris obèses permettait d'augmenter le taux d'A. muciniphiladans leur microbiote intestinal et diminuait l'insulinorésistance et la stéatose hépatique (Anhê FF Nachbar RT Varin TV *et al.*2017), avec Des traitements probiotiques des cancers, ou oncomicrobiotiques, consisteraient à administrer des bactéries encapsulées, vivantes ou atténuées, spécifiques du phénotype de répondeurs à des patients non-répondeurs. L'étude SYNCAN a testé l'effet de l'oligofructose associé à deux souches de probiotiques sur des patients à risque de développer un cancer du côlon. Les résultats de l'étude suggèrent qu'une préparation synbiotique peut diminuer l'expression des biomarqueurs pour le cancer colorectal.

L'addition de 5 à 15 % d'inuline ou d'oligofructose au régime alimentaire baisse l'incidence des tumeurs du gros intestin (Verghese *et al.*,2002), des tumeurs mammaires et leurs métastases pulmonaires chez les rats et les souris (Roberfroid, 2002). Cet effet était encore plus prononcé quand une combinaison de prébiotiques et de probiotiques a été administrée (Pietro Femia *et al.*, 2002). Le principal mécanisme de ces effets est lié à la production d'acides gras à chaîne courte au cours de la fermentation des prébiotiques qui cause une baisse du pH et la modulation de la flore intestinale, en particulier la stimulation de bactéries fermentatrices des glucides, ce qui provoque une diminution de la concentration des produits de la putréfaction, des substances génotoxiques, toxiques, et mutagènes, ainsi que la baisse des acides biliaires secondaires et d'autres facteurs cancérigènes (Roberfroid, 2002) .Elles semblent empêcher la formation des tumeurs bénignes – les polypes – qui sont à l'origine des tumeurs cancéreuses.

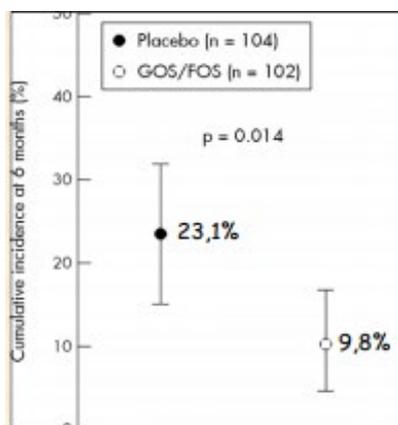
C- Les prébiotiques en tant que stratégie de traitement et de prévention des allergies :

Les prébiotiques n'ont pas d'effet immunogène direct. Cependant, ils peuvent, en agissant sur la flore intestinale, moduler indirectement différents paramètres du système immunitaire, pouvant par exemples agir sur l'activité des cellules NK «Natural Killer», sur la sécrétion d'interférons et la prolifération des lymphocytes.

a- Chez l'homme :

Une cohorte italienne de nourrissons, ayant des antécédents parentaux d'eczéma atopique, de rhinite allergique ou d'asthme, a été observée pour évaluer l'efficacité des prébiotiques dans la prévention des allergies (Arslanogluet *al.*, 2008 ; Moro *et al.*, 2006). Les prébiotiques testés correspondaient à un mélange de GOS et d'inuline inclus dans une formule hypoallergénique contenant des protéines du lactosérum de lait de vache hydrolysées. Les nourrissons ont été nourris avec la formule GOS et inuline pendant 6 mois, et les symptômes liés à l'allergie ont été évalués au cours des 6 premiers mois de vie (Moro *et al.*, 2006), puis 18 mois après la fin de la supplémentation en prébiotiques (Arslanogluet *al.*, 2008).

À l'âge de 6 mois et de 2 ans, l'incidence des maladies allergiques a été sensiblement réduite chez les enfants alimentés avec la formule GOS et inuline (Arslanogluet *al.*, 2008 ; Moro *et al.*, 2006). Chez les nourrissons traités pendant 6 mois, il a été observé une augmentation des bifidobactéries dans les fèces et une baisse du taux d'IgG1, d'IgG2, d'IgG3 totales et du taux d'IgE spécifiques des protéines du lait de vache (Moro *et al.*, 2006). Ainsi, une intervention nutritionnelle précoce avec les prébiotiques semble efficace pour orienter le système immunitaire de l'enfant vers des voies potentiellement protectrices de l'allergie. De plus, cet effet préventif semble être préservé à long terme, même lorsque la supplémentation en prébiotiques a été arrêtée.



Étude sur 206 enfants (allergies dans la famille)

Allaitement puis lait de synthèse avec supplémentation

- soit 0,8g/100mL GOS/FOS

- soit 0,8g/100mL placebo (sucre)

Figure 3.14 : Mesure de l'incidence de la dermatite atopique après ingestion de prébiotiques.

Adaptée de Moro *et al.* et Arch Dis Child, 2006.

En conclusion, la stratégie des prébiotiques semble très prometteuse dans la prévention de l'allergie, car toutes les études réalisées chez l'animal et chez l'homme ont montré des résultats encourageants. Cet effet protecteur pourrait être dû à l'induction par le prébiotique d'une prolifération accrue de certains genres bactériens autochtones capables d'interagir avec la barrière intestinale et le système immunitaire pour moduler la réponse allergique. La naissance et l'allaitement sont des périodes cruciales pour l'implantation du microbiote. Ainsi, agir pendant cette fenêtre de temps avec des prébiotiques constituerait une stratégie très

efficace pour modifier et orienter le microbiote vers un écosystème équilibré et protecteur des allergies.

b- Chez l'animal :

Benaoumer *et al.* (2016) ont examiné la possibilité de diminuer le risque des allergies, chez des souris Balb/c par administration de prébiotiques aux mères pendant la gestation et aux souris en post-sevrage. Les chercheurs ont utilisé des souris Balb/c gestantes répartis en deux lots. Un lot témoin gavé avec une solution physiologique saline et un lot expérimental gavé d'un mélange de prébiotiques l'inuline et le FOS et cela pendant toute la période de gestation, après sevrage les souris de chaque lot sont répartis en deux groupes, le premier immunisé et gavé avec des prébiotiques et le deuxième immunisé et non gavé et cela pendant 35 jours. À la fin de l'expérimentation, la perméabilité intestinale a été déterminée sur des segments intestinaux en Chambres de Ussing.

Les résultats indiquent que la différence du courant de court-circuit ainsi que la conductance ou la résistance de tissu chez les souris intubés par les prébiotiques et immunisés à la -lg sont nettement diminuées par rapport à celles des souris non traités et immunisés à la -lg et ces diminutions sont plus importantes lorsque les mamans sont aussi supplémentées de prébiotiques. L'exposition aux prébiotiques pendant la période périnatale et post sevrage a renforcé la fonction barrière de leur intestin en diminuant nettement sa perméabilité.

On conclut que les prébiotiques semble être une alternative très prometteuse en ce qui concerne la prévention d'allergie alimentaire.

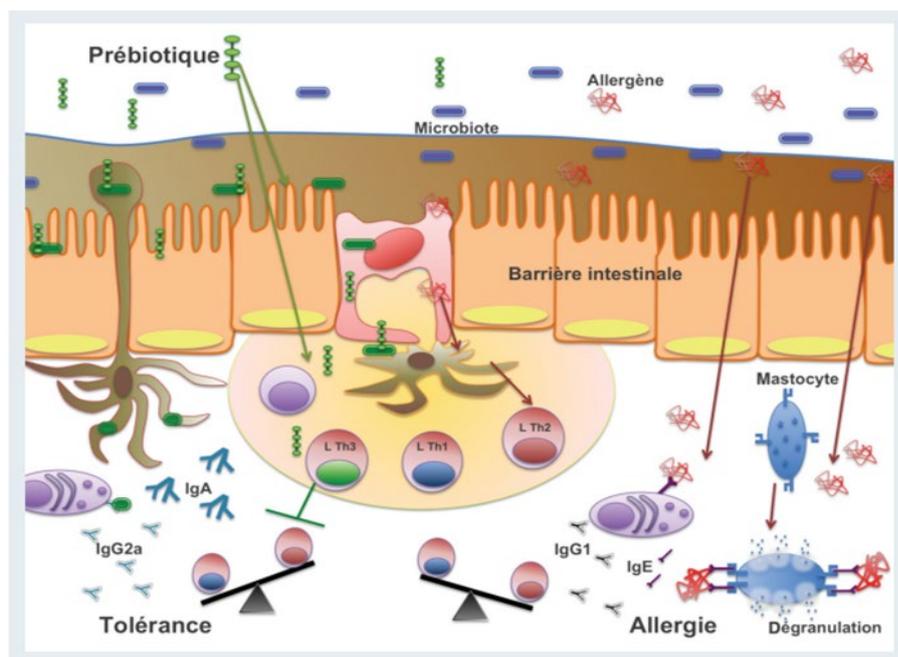


Figure3.15 : Hypothèse sur les effets potentiels des prébiotiques. Adaptée de Benaoumer *et al.*, 2016.

Selon l'hypothèse hygiéniste, un lien probable existe entre la modification du microbiote et la survenue des allergies. Une modification de la composition et/ou de l'activité du microbiote exercée par des prébiotiques pourrait d'une part, renforcer la barrière intestinale et d'autre part, orienter le système immunitaire vers des voies de tolérance et ainsi prévenir certaines allergies alimentaires (Benaoumer *et al.*, 2016).

D- La stimulation de l'absorption des minéraux et des oligoéléments :

Les effets bénéfiques des probiotiques sur l'absorption des minéraux ont été démontrés chez les humains (Abramset *al.*, 2005) ; (Cashman, 2006) , les rats (Ohta, 2006) (Morohashiet *al.*, 2005) et les porcs (Jolliff and Mahan, 2012) . La baisse du pH dans le tube digestif due à l'administration des prébiotiques améliore l'absorption du calcium, du fer, et du magnésium dans le gros intestin. Ceci est probablement dû à une meilleure solubilité des minéraux. Il a été démontré sur des modèles d'ostéoporose chez des rats ovariectomies, que la consommation des prébiotiques favorise la minéralisation osseuse, et inhibe la dégradation osseuse induite par une déficience en œstrogènes (Ohta *et al.*,1998) . Les effets bénéfiques sur l'absorption du calcium et la minéralisation osseuse ont été également démontrés chez les porcs (Jolliff and Mahan, 2012). Yasuda *et al.* en 2009, ont démontré que la supplémentation de l'alimentation porcine avec de l'inuline améliore l'expression des gènes codant des protéines de stockage du fer.

E- La propriété immunomodulatrice des prébiotiques :**a- Encéphalopathie hépatique :**

Des prébiotiques comme le lactulose sont communément utilisés dans la prévention et le traitement de la cirrhose. Une encéphalopathie hépatique minime a répondu à une préparation symbiotique (quatre souches probiotiques et quatre fibres fermentables, incluant l'inuline et l'amidon résistant) chez 50% des patients traités pendant 30 jours.

b- Traitement de la dermatite atopique par prébiotiques et symbiotiques : (étude comparative randomisée chez l'enfant de plus de 2 ans)

Etude monocentrique prospective randomisée en double aveugle réalisée dans le service de Dermatologie de Nice de mars 2003 à juin 2004 chez des enfants présentant une DA de SCORAD supérieur à 14 montre que l'utilisation des symbiotiques (probiotique : 1,2 u 10⁹ CFU de *Lactobacillus rhamnosus* + préparation prébiotique contenant essentiellement du lactose) peuvent induire une amélioration significative de la DA chez l'enfant de plus de deux ans dû à la modulation de la réponse immunitaire par les prébiotiques, notamment la balance Thi/Th2.

1.2.7. Aspects réglementaires :

Les prébiotiques sont considérés au même titre que les probiotiques, comme des compléments alimentaires par la législation européenne (Franck, 2002). L'Union Européenne a arrêté le règlement N°1924/2006 le 20 décembre 2006 (Union Européenne, 2006). Ce document vise à harmoniser les dispositions législatives, réglementaires ou administratives des Etats membres sur les allégations pouvant être associées aux denrées alimentaires fournies aux consommateurs dans le marché communautaire et dans la publicité.

L'emploi de ces allégations n'est autorisé que sous certaines conditions :

- Elles doivent reposer sur des preuves généralement admises par la communauté scientifique et médicale.
- Le complément alimentaire doit être présent en quantité significative et suffisante pour obtenir l'effet bénéfique affirmé et doit se trouver sous une forme permettant à l'organisme de l'utiliser.
- Le consommateur moyen doit être en mesure de comprendre les effets bénéfiques exposés dans les allégations.
- Un avertissement approprié doit être mentionné pour les produits susceptibles de présenter un risque pour la santé en cas de consommation excessive.
- Les informations suivantes doivent figurer sur l'étiquetage :
 - Une mention indiquant l'importance d'une alimentation variée et équilibrée et d'un mode de vie sain.
 - La quantité de la denrée alimentaire concernée et le mode de consommation requis pour obtenir l'effet bénéfique allégué.
 - Une indication à l'attention des personnes qui devraient éviter de consommer la denrée alimentaire en question.

Concernant l'étiquetage, le groupe de travail de l'« ISAPP » (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics) préconise de préciser sur l'emballage des produits contenant des prébiotiques :

- le nom exact et l'origine du composé actif
- la dose du composé actif, basée sur des niveaux documentés, ayant un impact sélectif sur certaines bactéries endogènes
- les effets positifs sur l'hôte.

Etude

Expérimentale

Introduction et objectifs :

Les symbiotiques suscitent la curiosité des chercheurs et font l'objet d'un certain nombre d'études et expériences afin de prouver leur performances. La pandémie du Covid-19 et le manque de produits de laboratoire ne nous a pas aidé à la réalisation de notre propre expérimentation afin de vérifier les prouesses de ces symbiotiques et de démontrer qu'ils pouvaient être les alternatives les plus adéquates aux antibiotiques. Pour ces raisons nous avons choisi une étude réalisée en 2017 par une équipe de recherche de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger qui ont démontré l'effet d'un symbiotique sur la charge microbienne pathogène chez le poulet de chair et son impact épidémiologique sur la prévalence des antibiorésistances.

Cette étude a pour objectif l'évaluation d'une addition d'un symbiotique sur les résistances des souches *E. coli*, la flore digestive du poulet de chair, et la qualité sanitaire de la viande. Trois buts ont été fixés pour cet essai :

Le premier but consiste à voir l'impact des antibiorésistances des souches *E. coli* après une supplémentation en symbiotique.

Le second but est de déterminer l'effet de l'addition d'un symbiotique sur la charge bactérienne intestinale par le dénombrement des coliformes totaux et fécaux, c'est-à-dire, déterminer une éventuelle amélioration du profil du microbiote à partir des résultats du dénombrement établi.

Enfin, le troisième et dernier but concerne la détermination de l'impact de cette supplémentation sur la qualité sanitaire de la viande par le dénombrement de la FAMT.

Matériels et méthodes :**I. Elevage :****1. Lieu, durée et période de l'étude :**

L'essai a été effectué dans une exploitation avicole privée, à TIFRAH dans la wilaya de Tizi-Ouzou pendant une période allant du 21 février au 14 mai 2017, soit une durée de 63 jours.

2. Animaux :

Des poussins d'un jour de souche ARBOR ACRES au nombre de trois milles quatre-vingt (3080), sont triés et répartis en deux lots (témoin et expérimental) chacun comprenant 1540 poussins (en excluant les individus morts, trop chétifs ou lésés). Ces deux lots sont séparés par une séparation en carton d'une hauteur d'un mètre, ce qui fait que les deux lots sont soumis aux mêmes conditions d'ambiances.



Figure1 : Vue intérieure du bâtiment avec la séparation des deux lots

3. Bâtiment :

Le bâtiment d'élevage utilisé est un hangar d'une longueur de 32 m et d'une largeur de 8 m, soit une superficie de 256 m². Ce bâtiment contient un SAS d'une superficie de 32 m² servant de lieu de stockage d'aliment. Le bâtiment est de type obscur surmonté d'une toiture à double pente faite de tôle. L'expérimentation s'est faite dans une chambre en dur. La ventilation est statistique assuré par la présence de fenêtres placés à 1,5 m du sol pour l'entrée d'air quant à l'extraction des gaz, elle est faite par la présence d'un extracteur et de sept cheminées.



Figure2 : Vue extérieure du bâtiment

4. Conduites d'élevage :

Tout d'abord, le bâtiment a été nettoyé puis désinfecté (sols, parois et plafonds), tout comme le matériel utilisé au cours de l'élevage (mangeoires, abreuvoirs) à l'aide du TH5®, qui est un désinfectant de surface ayant une action bactéricide, fongicide et virucide à raison de pulvérisation (environ 0,3 l de solution par m²), de trempage (1 litre de TH5 dans 100 litre d'eau), ainsi que de pédiluve et rotoluve (1 litre de TH5 dilué dans 100 litres d'eau).

➤ **Vide sanitaire :**

En vue de prolonger l'action du désinfectant et d'assécher les sols et les parois mais aussi pour des raisons climatiques, un vide sanitaire d'une durée d'un mois a été pratiqué.

➤ **Mise en place des poussins :**

Les poussins sont mis en place dans une surface de 32 m² avec une séparation d'une hauteur de 60 cm au milieu pour obtenir une superficie de 16 m² pour chaque lot. Chacun des compartiments contient une éleveuse à gaz et huit abreuvoirs (les poussins n'ayant reçu l'aliment que 6h après leur mise en place).

➤ **Litière :**

Au cours de la phase de démarrage, la litière est constituée de paille sur une épaisseur de 5 cm environ. La litière est recouverte de papier le 1^{er} jour pour éviter les problèmes de glissement des poussins. Le 2^{ème} jour, le papier est retiré. Cette litière permet de limiter la déperdition de chaleur des animaux et l'absorption de l'humidité des déjections.

➤ **Température, hygrométrie, taux d'ammoniac et vitesse de l'air :**

Au cours de la période d'élevage, ces paramètres sont contrôlés et mesurés à J25 et J45.

La température, l'hygrométrie et la vitesse de l'air sont mesurés grâce à un appareil « EnvironmentMeter ® » et le taux d'ammoniac présent dans chaque compartiment (aire de vie) est mesuré à l'aide de bandelettes « pulmotil A® » à environ 30 cm du sol pour chaque lot.

Le tableau ci-dessous regroupe les valeurs mesurées.

Tableau1: Les valeurs des paramètres mesurées dans l'aire de vie

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

5. Equipements d'élevage :

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

6. Programme sanitaire d'élevage :

Le tableau présente le protocole sanitaire suivi au sein de l'exploitation.

Tableau2 : Plan de prophylaxie appliqué durant l'essai.

Age (jours)	Vaccination et traitement
J 1	Anti-stress pendant 05 jours
J 4	Vaccination contre la maladie de Newcastle et bronchite infectieuse (HB1)
J 7	Vitamine AD3E+ Vitamine C
J 14	Vaccination contre la maladie de Gumboro (D78)
J 17	Traitement anticoccidien pendant 05 jours
J 21	Rappel de vaccination contre la maladie de Newcastle (souche sota)
J 31	Anti-stress (vitamines+néoxyvital) pendant 04 jours
J 32	Rappel de vaccination contre la maladie de Gumboro
J 33	Rappel de traitement anticoccidien pendant 05 jours
J 47	Traitement antibiotique (Amoxicilline) à dose pulsatile (20mg/kg/jr) pendant 05 jours que pour le lot témoin.

(Toutes les vaccinations sont administrées per os dans l'eau)

II. Aliment :

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

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

L'aliment et l'eau ont été fournis *ad libitum* durant toute la période d'élevage. La composition ainsi que les caractéristiques calculées sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau3 : Composition et caractéristiques des aliments utilisés durant l'essai.

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

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

III. Modalité de supplémentation en symbiotique :

Dans cette étude, le symbiotique utilisé est une association de probiotiques, de prébiotiques et d'enzymes, commercialisé sous le nom d'ENZYVEBA®, et qui est un concentré de ferment lactique développé spécifiquement pour la santé des animaux monogastriques et ruminants.

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

Comme dosage du produit, pour 2 litres d'eau de source 1 litre de produit est utilisé.

IV. Traitements expérimentaux :

Deux lots sont comparés afin d'étudier l'effet de l'utilisation du symbiotique chez le poulet de chair. Ces deux lots sont :

- 1) Un lot témoin (T) qui n'a rien reçu au niveau de sa litière de paille ;
- 2) Un lot expérimental (E) qui a reçu sur sa litière, faite de paille tout comme chez le lot témoin, une addition en symbiotique par pulvérisation à l'aide d'un canon durant toute la période d'élevage.

L'utilisation du symbiotique couvre toute la période d'élevage, ce qui veut dire du 1^{er} jusqu'au 63^{ème} jour. Comme il a été cité précédemment, l'impact de ce dernier est évalué sur la flore intestinale, les antibiorésistances des souches *E. coli* ainsi que la qualité sanitaire de la viande.

V. Les paramètres étudiés :

V.1. Analyses bactériologiques (Recherche des *E. coli* et *Salmonelles*) :

A j25 et j45, un effectif de 10 sujets est récupéré aléatoirement de l'élevage à partir de chaque lot (témoin et expérimental). Une autopsie est effectuée au niveau du laboratoire de pathologie aviaire de l'ENSV puis, des prélèvements de matrice (foie et viande) sont effectués sur place et acheminés au laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV pour des examens bactériologiques.

V.1.1. Echantillonnage et prélèvement :

L'étude s'est portée sur la recherche et l'isolement d'*E. coli* et salmonelles à partir de 40 foies de poulets sacrifiés par saignée ; les échantillons sont prélevés par échantillonnage.



Figure3 : Prélèvement du foie par écouvillonnage

V.1.2. Les milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés lors de cette expérimentation sont :

- BN (Bouillon Nutritif) milieu d'enrichissement pour les *E. coli* ; Institut Pasteur d'Algérie ; Bioscan Algérie
- EPT (Eau Peptonée Tamponée) milieu de pré-enrichissement pour les salmonelles ; Bioscan Algérie
- SFB milieu d'enrichissement des salmonelles ; Bioscan Algérie
- Milieu (SS) *Salmonelles-Shigelles*, milieu d'isolement des salmonelles ; Bioscan Algérie
- Milieu Hektoen, milieu d'isolement des *E. coli* ; Bioscan Algérie
- Milieu TSI (Triple Sugar Iron) ; Dimed Algérie
- Milieu Mueller-Hinton utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme ; Institut Pasteur Algérie
- Pour l'identification biochimique, utilisation de la galerie API20 E, BioMériaux, France.

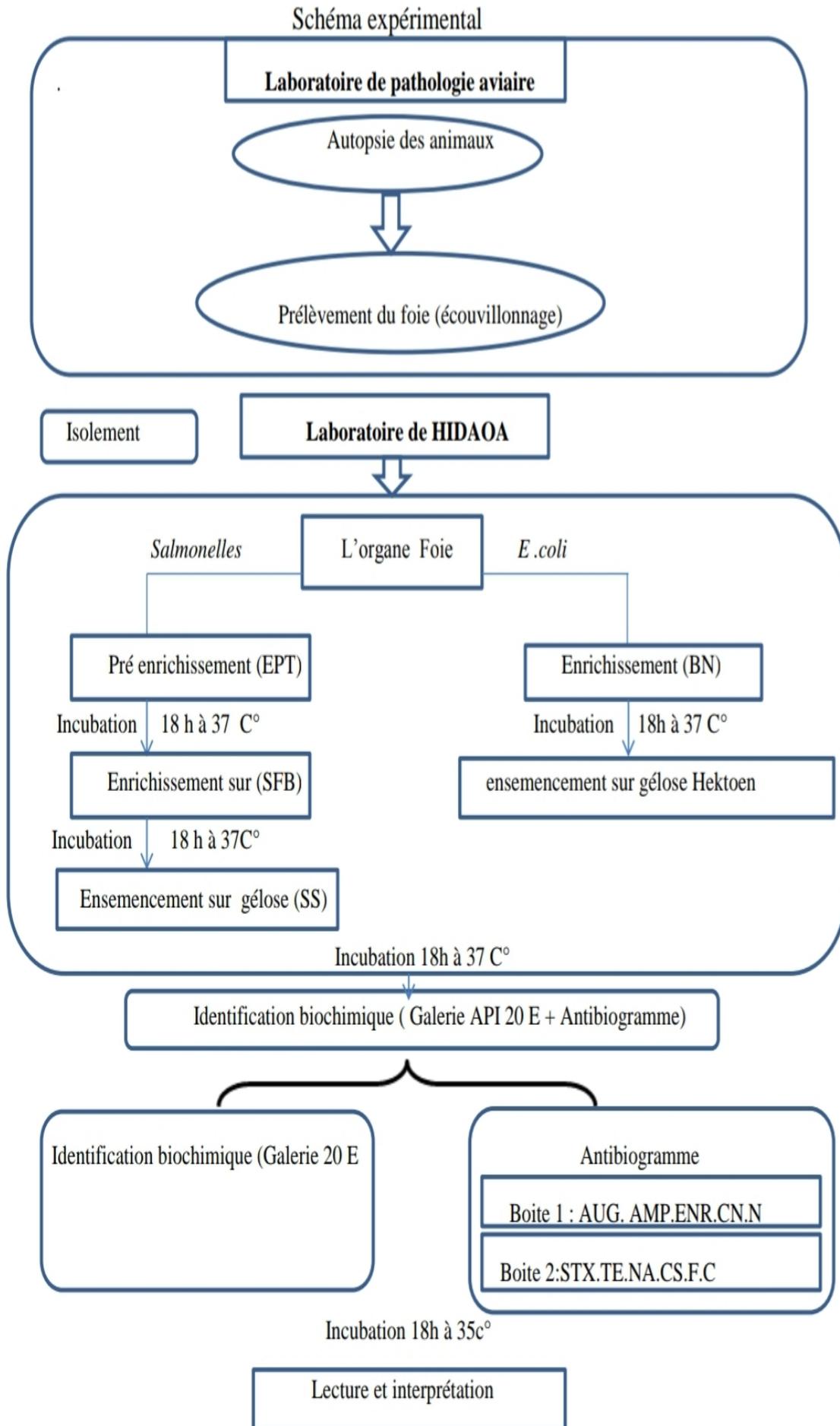
V.1.3. Les produits de laboratoire :

Les réactifs et produits de laboratoire utilisés sont :

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

V.1.4. Conduite expérimentale :

Les différentes étapes de l'expérimentation pour la recherche des salmonelles et des *E. coli* sont regroupées dans le schéma ci-dessous :



V.1.5. Bactériologie :

Les échantillons prélevés après autopsies sont apportés au laboratoire d'HIDAOA. Avant d'entamer la procédure bactériologique, une zone stérile est créée par flamme du bec bunsen sur une paillasse soigneusement nettoyée avec de l'eau de javel.

V.1.5.1. Isolement des *E. coli* :

a- Enrichissement :

L'ensemencement du boillon nutritif, étant le milieu d'enrichissement des *E. coli*, est effectué par introduction de l'écouvillon contenant le prélèvement. Ensuite, le tube contenant ce bouillon est incubé 18 à 24h à 37°C.

b- Ensemencement :

Les 24h d'incubation écoulées, l'ensemencement par la technique d'épuisement est effectué à partir du BN incubé. C'est-à-dire, une goutte du BN est ensemencée sur gélose Hektoen puis incubée une deuxième fois 18 à 24h à 37°C.

V.1.5.2. Isolement des salmonelles :

a- Pré-enrichissement :

Le tube du milieu de pré-enrichissement EPT est ensemencé par introduction d'un écouvillon chargé de prélèvement puis incubé 18 à 24h à 37°C.

b- Enrichissement :

Un prélèvement de 1ml du tube d'EPT incubé la veille est introduit dans un tube contenant le milieu d'enrichissement des salmonelles SFB puis incubé 18 à 24h à 37°C.

c- Ensemencement :

Une goutte est prélevée à partir du tube SFB incubé la veille et est ensemencée par la technique d'épuisement sur une gélose Salmonelles-Shigelles puis incubée encore une fois 18 à 24h à 37°C.

V.1.5.3. Identification des bactéries :

L'identification microbiologique met en œuvre ce qui suit :

V.1.5.3.1. Identification morphologique :

Elle se fait sur un plan macroscopique.

a- Pour les *E. coli* :

Les colonies apparaissent rondes et bombées, brillantes à bord net de diamètre de 2 à 3mm, de couleur jaune-orangé.

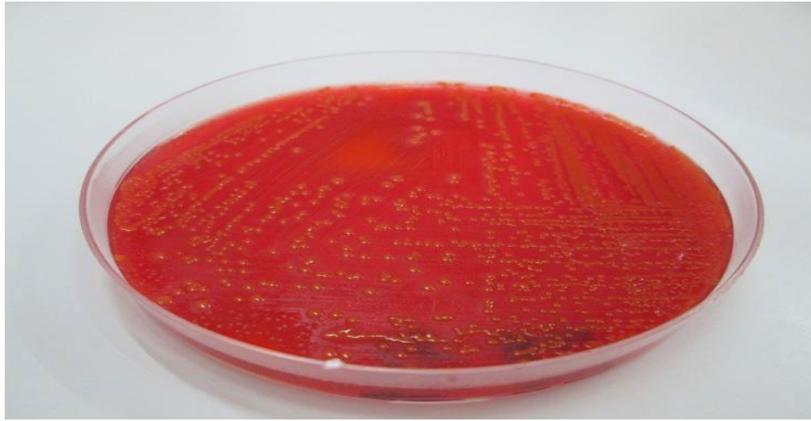


Figure4 : Aspect des colonies *E. coli* sur gélose Hektoen

b- Pour les salmonelles :

Les colonies lactose négatives sont incolores et les colonies lactose positives sont rouges. La production de H₂S est souvent notée par un pigment noir au centre de la colonie.

V.1.5.3.2. Identification biochimique :

a- Test de la catalase :

La recherche de cette enzyme chez les bactéries à Gram négatif n'a pas d'intérêt car la plupart d'entre elles possèdent une catalase. En revanche, la recherche de cette enzyme chez les bactéries à Gram positif permet la différenciation des *Staphylococcus* et les *Micrococcus* (catalase +) des *Enterococcus* et des *Streptococcus* (catalase -).

La procédure de ce test consiste à mettre en contact une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) avec une colonie isolée prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une anse plastique à usage unique, sur une lame de verre propre.

Le dégagement de dioxyde observé par formation des bulles se traduit par la possession de la catalase chez la bactérie. En revanche, si l'effervescence n'est pas observée, cela veut dire que la bactérie ne possède pas l'enzyme catalase.

b- Test oxydase :

Ce test est fondamental pour orienter l'identification des bacilles à Gram négatif. Il est réalisé avec le réactif chlorhydrate.

Des ampoules d'oxydase imprègnent le papier filtre de réactif. Une colonie est déposée sur une lame avec une pipette Pasteur et non pas avec une anse en métal pour qu'elle ne soit pas oxydée.

La bactérie est oxydase positive et possède le cytochrome oxydase si au bout de 30 secondes une tache violette apparaît. Si cette dernière n'apparaît pas, la bactérie est dite oxydase négatif et ne possède donc pas l'enzyme respiratoire.

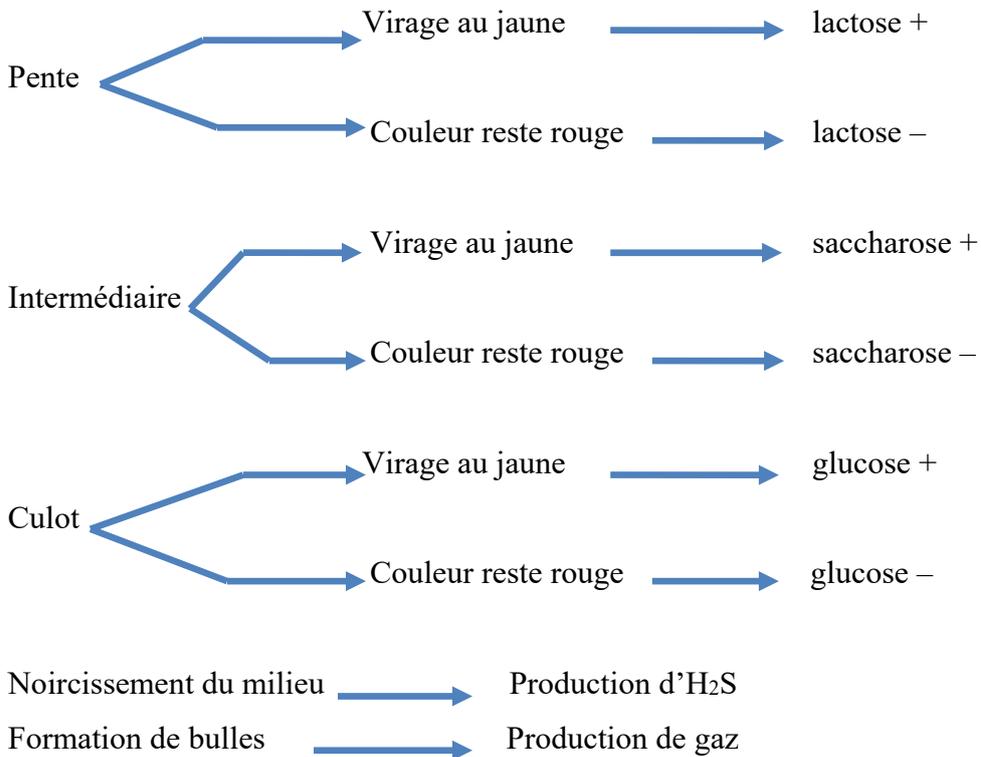
Les colonies étant Gram -, catalase + et oxydase - seront identifiées à l'aide de TSI (Triple SugarIron) et Urée-indole.

c- Test des trois sucres :

Il met en évidence l'utilisation du glucose, la production d'H₂S et du gaz par les bactéries.

- La fermentation du glucose induit le virage au jaune au niveau du culot ;
- La fermentation du lactose induit le virage au jaune de la pente ;
- La fermentation du saccharose induit le virage au jaune de la zone intermédiaire ;
- La production d'H₂S, qui est due à la formation de sulfure de fer, induit la coloration du milieu en noir.

Il est réalisé par ensemencement en stries sur la pente puis une piqure centrale profonde dans le culot à partir d'une colonie, dans un tube de milieu Triple SugarIron (TSI) qui ne sera pas complètement vicié puis incubé 18h à 37°C.



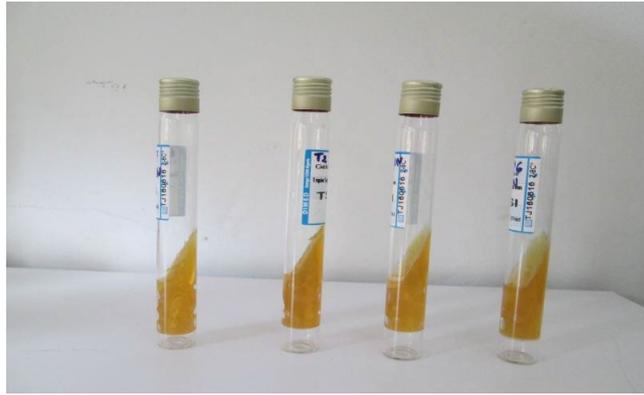


Figure5 : Tubes de milieu TSI

d- Test uréase :

L'enzyme uréase est responsable de la réaction : $\text{NF}_2 + \text{COOH} \longrightarrow \text{CO}_2 + \text{NH}_3$ et peut être mise en évidence par la culture de la souche sur un milieu d'urée-indole contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge phénol. Ce milieu est de couleur jaune à pH 6,8 et devient rouge à pH 8,4. Le virage de couleur est expliqué par la libération de l'ammoniac qui alcalinise le milieu lors d'une croissance d'un organisme uréase positif sur un tel milieu.

La réalisation de ce test se fait par ensemencement d'une suspension bactérienne de la colonie suspectée à l'aide d'une pipette Pasteur dans un microtube contenant 1ml du milieu urée-indole. L'incubation est à 37°C pendant 18 24h.

Milieu devient rouge \longrightarrow Réaction positive

Milieu reste jaune \longrightarrow Réaction négative

e- Test de l'indole :

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

Après la recherche de l'uréase, 3 à 4 gouttes du réactif Kovac's sont rajoutées au milieu urée-indole puis le tube est fermé et agité.

La production de l'indole est traduite par la formation d'un anneau rouge à la surface.

Anneau rouge \longrightarrow Réaction positive

Anneau jaune \longrightarrow Réaction négative

V.1.5.3.3. Identification biochimique par galerie API20 E :

La galerie API20 E permet l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif.

Elle comporte 20 tests biochimiques miniaturisés donc 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. La suspension bactérienne introduite dans ces microtubes reconstitue le

test indiqué par un sigle au-dessus du microtube. Les réactions produites se traduisent par des virages colorés spontanément ou révélés par l'addition de réactifs.

A- Mode opératoire :

a- Préparation de la galerie :

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

b- Préparation de l'inoculum :

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

c- Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;
- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tubes et cupules.
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules).
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 35-37°C pendant 18 à 24h.

B- Lecture de la galerie :

Après incubation et addition des réactifs ci-dessous, la lecture de la galerie se fait par référence au tableau de lecture.

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

C- Interprétation de la galerie :

L'identification est obtenue à partir du profil numérique qui est déterminé sur la fiche de résultats (voir annexes). Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, 7 chiffres sont obtenus.

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

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



Figure6 : Galerie API20 E après incubation et ajout des réactifs

V.1.5.4. Antibiogramme :

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

Tableau 4 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.

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

A- Principe :

Cette méthode est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic et consiste à déposer à la surface d'un milieu gélosé, ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier, des disques de papier buvard imprégnés d'antibiotiques à tester.

Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (les diamètres de ces zones dépendent uniquement de la sensibilité du germe).

B- Technique :

Avant toute chose, les boîtes de Pétri stériles sont remplies la veille de gélose Mueller-Hinton sur une épaisseur de 4 mm.

a- Inoculum :

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

b- Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;

- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
 - Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
 - Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
 - ✚ Dans le cas où plusieurs boîtes de Pétri sont ensemencées, l'écouvillon est rechargé à chaque fois.
- c- Application des disques d'antibiotiques :
- Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;
 - Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.
 - ✚ Ne pas mettre plus de six disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre.

Tableau5 : Application des disques d'antibiotiques par boîte de Pétri

Boîtes	Les disques d'antibiotiques					
1	STX	CS	NA	TE	C	F
2	AUG	AMP	/	ENR	CN	N

C- Lecture :

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

V.1.5.5. Etude BLSE :

a- Définition des bactéries BLSE :

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

Les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) constituent un groupe d'enzymes qui confèrent la résistance aux pénicillines, à la 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération de céphalosporines, à l'aztréoname (non aux céphamycines et carbapénèmes) par hydrolyse de ces antibiotiques (Buchet *al.*, 1995) .

Leur apparition et leur dissémination dans les bactéries à Gram négatif coïncident avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines et les quinolones.

b- Techniques microbiologiques :

L'inhibition des BLSE par l'acide clavulanique fait que ces dernières soient détectées. En effet, une augmentation de l'activité des C3G en présence d'acide clavulanique indique directement la présence d'un BLSE.

Pour cette étude deux tests de recherche des BLSE sont utilisés :

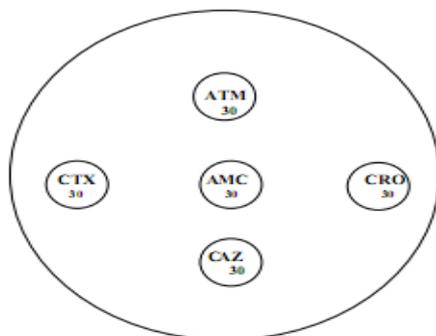
- Le test de synergie considéré comme test de recherche ;
 - Le test du double disque considéré comme test de confirmation.
- ✚ Les souches qui subissent l'étude BLSE sont celles qui avaient révélées des diamètres inférieurs à 27 pour le céfotaxime à l'antibiogramme.

V.1.5.5.1. Test de synergie (test de recherche) :

Ce test a pour caractère principal, la recherche d'une image de synergie entre un disque d'antibiotique qui contient un inhibiteur de β -lactamases et un disque de C3G.

a- Technique :

Autour d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique, des disques de céfotaxime, ceftazidime, ceftriaxone et aztréoname sont disposés sur une gélose Mueller-Hinton qui estensemencée selon la technique NCCLS de l'antibiogramme. La distance entre ces disques, centre à centre, est de 30 mm.



ATM : aztréoname ; CAZ : ceftazidime ; CTX : céfotaxime ; CRO : ceftriaxone.
30 représente la quantité d'antibiotique en μg dans le disque.

Figure7 : Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie

b- Lecture :

L'apparition d'une synergie entre les disques des oxyimino- β -lactamines et le disque qui contient l'acide clavulanique renvoie à la présence d'une BLSE.

Cette synergie est matérialisée par une image en forme de bouchon de champagne.

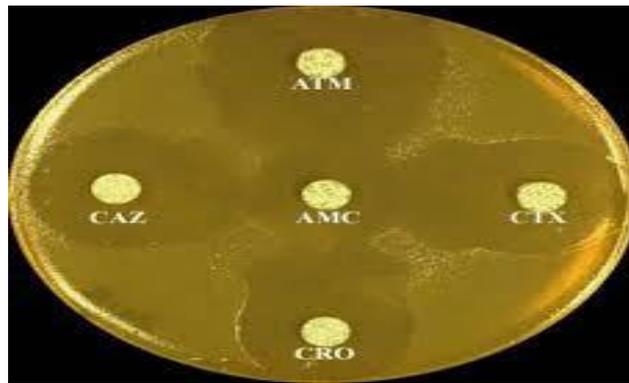


Figure8 : Test de synergie positif (en bouchon de champagne)

V.1.5.5.2. Test du double disque (test de confirmation) :

La détection de BLSE peut être confirmée par le test du double disque.

Ce test repose sur la recherche d'une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque contenant une association amoxicilline-acide clavulanique (AMC), comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose Mueller-Hinton (Rahal, 1999).

a- Technique :

Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture de 18h puis ensemencée sur gélose Mueller-Hinton selon la technique de l'antibiogramme NCCLS. Ensuite, un disque contenant l'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (CTX) y sont disposés.

La diffusion est faite pendant 1 heure à la température ambiante du laboratoire puis, le disque AMC est remplacé par un disque qui contient la même céphalosporine de 3^{ème} génération.

L'incubation des boîtes de Pétri est à 35°C pendant 18 heures.

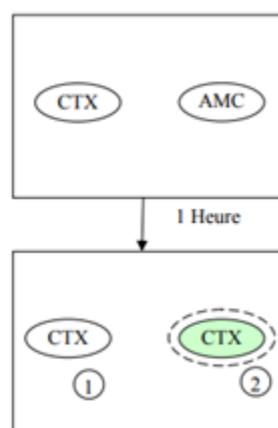


Figure 9: Schéma de confirmation des BLSE par le test du double disque

b- Lecture :

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

V.2. Dénombrement bactérien :

L'étude s'est portée sur la recherche des coliformes totaux et fécaux et les *E. coli* au niveau des fientes des poulets et la flore aérobie mésophile totale (FAMT) au niveau de la viande à partir des deux lots, témoin et expérimental, à la fin de l'essai (j45).

Le travail est réalisé au sein du laboratoire d'IDAOA de l'école nationale supérieure vétérinaire.

V.2.1. Les prélèvements effectués :**a- Prélèvement des fientes :**

25 g de fientes sont prélevés de la litière de chaque lot en faisant attention à ne pas prendre la partie en contact avec la litière.

Ce prélèvement est mis dans un pot stérile et conservé dans une glacière à une température de 4°C avant d'être directement acheminé au laboratoire d'HIDAOA de l'école nationale supérieure vétérinaire pour effectuer les analyses.



Figure10 : Pesée des fientes après prélèvement

b- Prélèvement de la viande :

Après autopsies des poulets sacrifiés par saignée, une portion du bréchet est prélevée aseptiquement de chaque sujet et mise dans un pot stérile.

Un total de 25 g de viande est obtenu de chaque lot et acheminé au laboratoire d'HIDAOA de l'école nationale supérieure vétérinaire.



Figure11 : Prélèvement de la viande au niveau du bréchet

V.2.2. Les germes dénombrés :

Les coliformes totaux et fécaux (au niveau des fientes) et la flore mésophile aérobie totale « FAMT » (au niveau de la viande) sont les germes dénombrés au cours de cette étude.

Concernant les coliformes constituant une flore naturelle du tube digestif, ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase négatif, aéro-anaérobie facultatifs fermentant le lactose avec production de gaz en 48h à 37°C. Les genres aux quels ils appartiennent sont : *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*,...etc.

En plus des coliformes totaux cités, il y a les coliformes fécaux termotolérants représentant environ 1% de la flore intestinale. Ils ont les mêmes propriétés que les coliformes totaux mais à une température différente à savoir 44°C. Le plus souvent, ils correspondent à *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* et *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica*. Toute fois, les coliformes peuvent contenir des espèces pathogènes causant ainsi des maladies telles que la colibacillose qui est due à *E. coli* (Delarras, 2010).

Quant à la flore mésophile aérobie totale, elle est constituée d'un ensemble de microorganisme variés qui correspondent à des germes de contamination banals qui sont des bactéries indicatrices d'hygiène (test d'hygiène). Leur dénombrement reste une bonne méthode d'appréciation de la qualité microbiologique de la viande de poulet de chair ainsi que de l'application des bonnes pratiques d'hygiène. En effet, une grande quantité en flore mésophile indique un engagement du processus d'altération de la viande. 30°C est la température optimale de croissance de ces germes qui sont généralement le reflet des mauvaises conditions d'hygiène (Guiraud et Rosec, 2004).

La technique de dénombrement est celle utilisée pour les analyses microbiologiques alimentaires suivant les normes qui suivent :

- NF V 08-050, 1999 pour les coliformes totaux ;
- NF V 08-060, 1996 pour les coliformes fécaux ;
- ISO 16649 pour *Escherichia coli* ;
- V 08-011, 1991/ ISO 4833 pour la FAMT.

V.2.3. Les milieux de culture utilisés :**a- Milieu utilisé pour le dénombrement des coliformes :**

Deux milieux sont utilisés pour l'isolement des coliformes, le milieu VRBL (gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge de phénol) pour les coliformes totaux et qui représente un milieu sélectif des Gram négatif par la présence des sels biliars et cristal violet. L'autre milieu de culture est pour le dénombrement des coliformes fécaux, c'est le milieu VRBG (gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre). Il représente un milieu sélectif destiné à déterminer la présence et estimer la quantité d'*Enterobacteriaceae* présentes dans divers produits.

La gélose TBX (tryptone bile x glucuronide) est utilisée pour le dénombrement des *Escherichia coli*. Ce milieu est sélectif pour les *Escherichia coli* β -D glucuronidase positive.

En effet, les sels biliars inhibent la croissance des microorganismes à Gram positif et favorisent la récupération des *E. coli*.

b- Milieu utilisé pour le dénombrement de la FAMT :

Concernant la flore aérobie mésophile totale, le milieu PCA (plate count agar) est utilisé. Il contient un digestat enzymatique de caséine, de l'extrait de levure et du glucose et est utilisé pour le dénombrement des microorganismes aérobies (bactéries, levures, moisissures) qui se développent en 72h à 30°C dans les produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou l'alimentation animale.

V.2.4. Préparation des dilutions :

Une dilution mère (DM) est préparée pour les deux prélèvements fientes et viande, avant le lancement de la culture. Pour se faire, 25 g de produit sont introduits dans un sac stomacher.

- ✚ Les 25 g de viandes sont coupés à l'aide de ciseaux stériles en petits morceaux puis sont mis dans le sac stomacher pour une meilleure homogénéisation.
- 225 ml de TSE (typtone sel eau) sont versés dans le sac stomacher ;
- Le sac est placé dans l'appareil stomacher réglé à la vitesse maximale N°9 pour effectuer le broyage. Cette opération dont la durée varie entre 60 et 90 secondes selon la nature du produit, permettra la diffusion en solution de la flore bactérienne ;
- La solution ainsi obtenue est versée dans un flacon stérile et elle constitue la dilution 1/10 (10^{-1}).

Des dilutions décimales sont préparées à partir de la dilution mère (DM). Pour cela, plusieurs tubes à essais contenant 9 ml d'eau physiologique stérile et de nombreuses pipettes Pasteur stériles, sont nécessaires.

Un prélèvement de 1 ml de la DM est introduit dans un tube à vis contenant 9 ml d'eau physiologique stérile puis, le tube est agité à l'aide d'un vortex. Ainsi, la dilution 1/10 (10^{-2}) est obtenue.

Ensuite, un prélèvement de 1 ml de la dilution 10^{-2} est introduit dans un autre tube contenant le diluant stérile pour obtenir la dilution 10^{-3} .

La procédure se poursuit de la même manière jusqu'à atteindre la dilution 10^{-9} pour le dénombrement des coliformes et jusqu'à la dilution 10^{-6} pour la FAMT.

- ✚ Toutes les manipulations sont effectuées dans la zone stérile du bec bunsen, avec toutes les procédures d'asepsie exigées en microbiologie.



Figure12 : Préparation des dilutions

V.2.5. Ensemencement et incubation :

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

Pour les coliformes fécaux et les *E. coli*, les boîtes sont incubées dans une étuve à $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24\text{h} \pm 2\text{h}$.

Les coliformes totaux sont incubés à 37°C pendant 24h.

La flore aérobie mésophile totale est quant à elle, incubée pendant 72h à 30°C .

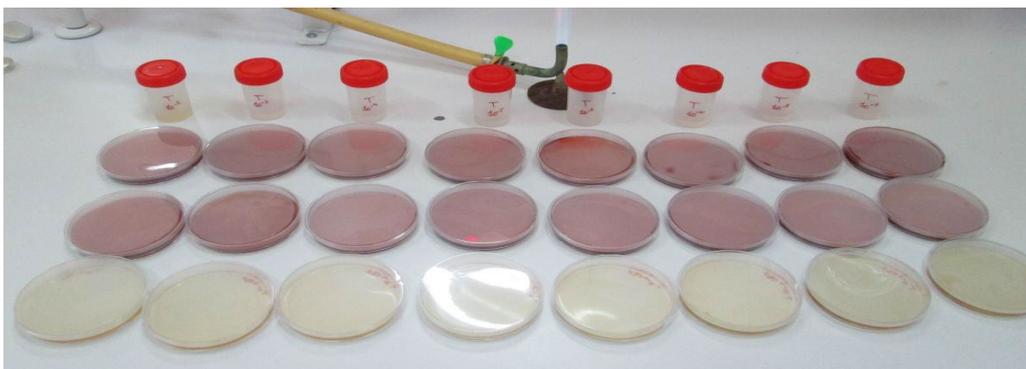


Figure13 : Ensemencement des coliformes sur gélose VRBL, VRBG et TBX

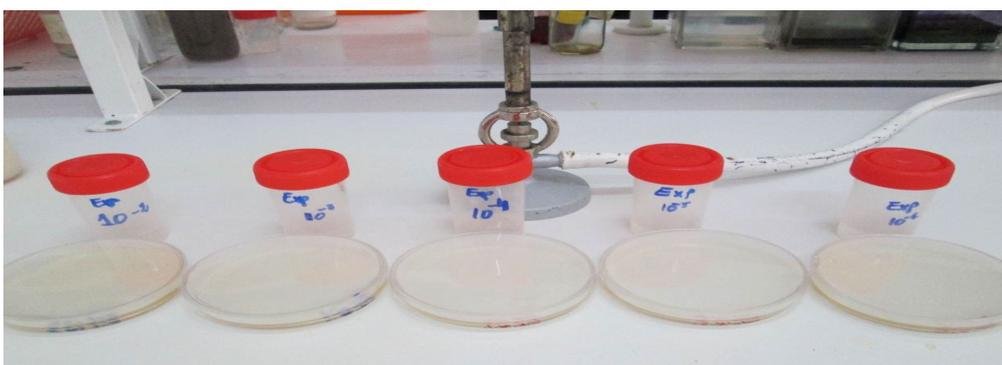


Figure14 : Ensemencement de la FAMT sur gélose PCA

V.2.6. Dénombrement des colonies :

a- Dénombrement des coliformes :

Le comptage des colonies caractéristiques des coliformes est procédé après que la période d'incubation soit écoulée. Pour chaque boîte, pas plus de 150 colonies au total sont comptées car au delà de ce chiffre, les colonies risquent de prendre des aspects non caractéristiques.

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

Les colonies caractéristiques pour les *Escherichia coli* ensemencés sur gélose TBX apparaissent bleues. En revanche, les colonies non caractéristiques apparaissent blanches à beige vert sur le milieu TBX.

b- Dénombrement de la FAMT :

Après incubation, toutes les colonies sont comptées dans les boîtes dont le rendement est entre 30 et 300 colonies.

- ✚ Les boîtes ayant moins de 30 colonies et plus de 300 colonies sont éliminées selon les normes précipitées en microbiologie des aliments et des eaux.

Expression des résultats :

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

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

Où :

ΣC : est la somme des colonies caractéristiques comptées sur les deux boîtes retenues ;

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

✚ Les résultats calculés sont arrondies à deux chiffres significatifs.

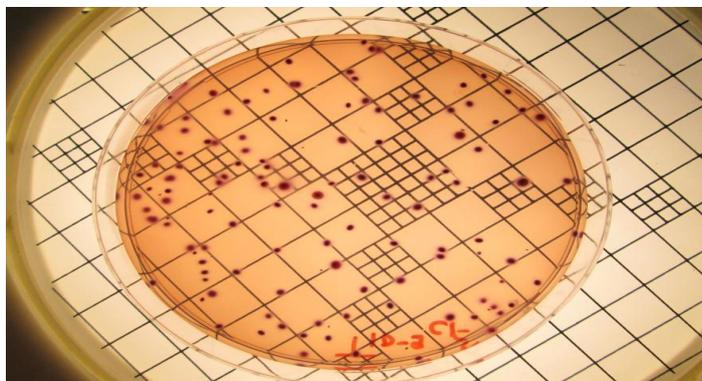


Figure15 : Dénombrement sous le compteur de colonies

NB : Toutes les figures sont des photos personnelles prises durant l'étude par l'équipe de recherche.

VI. Analyses statistiques :

La comparaison des résultats est obtenue par l'équipe chargée de cette étude après application du test wilcoxon signé avec correction de continuité.

D'autres tests paramétriques « Fisher/ Student » et « l'écart réduit Z » sont employés, mais sont appliqués sur des paramètres non répertoriés dans ce travail.

De plus, cette même équipe a comparé les taux de résistance des souches *Escherichia coli* du lot témoin et du lot expérimental à l'aide du test χ^2 de Pearson.

Toutes les analyses sont effectuées à l'aide du logiciel d'analyse statistique XLstat version2016.02.284

Résultats et discussion :

Comme il a été cité auparavant, il a été mis en évidence l'effet de l'application du symbiotique (ENZYVEBA) sur la flore digestive du poulet, les antibiorésistances des souches *Escherichia coli* l'état sanitaire de la viande du poulet de chair, dans un essai qui a duré 63 jours.

Avant toute chose, on signale un incident qui est survenu au sein du bâtiment au cours de la période d'élevage précisément à j 31.

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

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

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

Cette erreur d'élevage n'a pas rapporté des modifications significatives qu'au niveau des performances zootechniques (non répertoriées dans ce travail): une baisse des performances recrudescence est notée au sein du lot expérimental par rapport au lot témoin et ceci durant la période de croissance (J25 –J45).

I. Bactériologie :**I. 1. Isolement et identification des *E. coli* :****I. 1.1. Lot témoin :**

Sur les 20 sujets autopsiés, 12 souches ont été isolées soit un taux de 60% dont 11 isolats d'*E. coli* avec un taux de 55% et une souche de *Serratiamarcescens* avec un taux de 5%, pour les 8 sujets restants soit un taux de 40% la culture s'est révélée négative aucune poussée n'a été enregistrée (Figure 16).

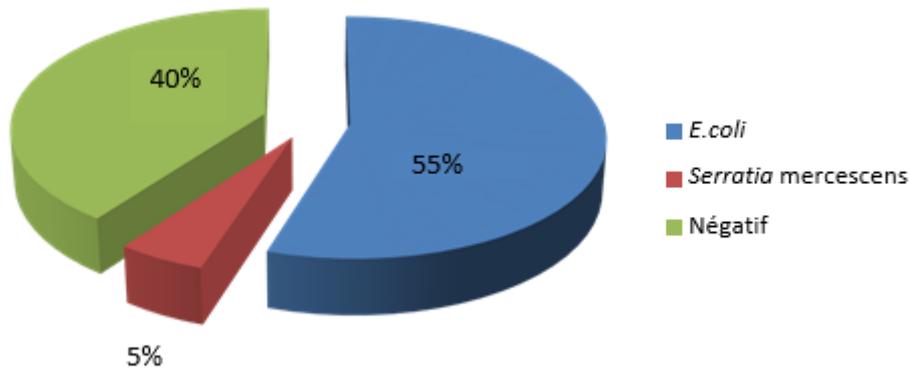


Figure 16: Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin.

I. 1.2. Lot expérimental :

Sur les 20 sujets autopsiés, également 12 souches ont été isolées soit un taux de 60% dont 11 isolats d'*E.coli* avec un taux de 55% et une souche de *Proteus mirabilis* avec un taux de 5%, pour les 8 sujets restants soit un taux de 40% la culture s’est révélée négative (figure 17).

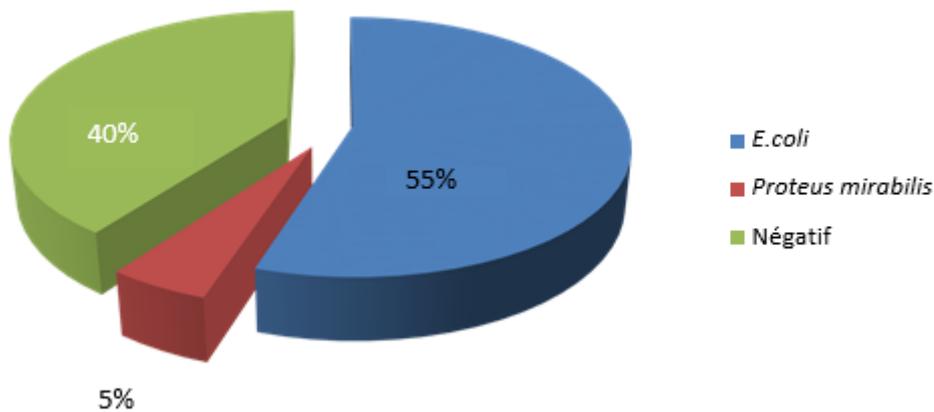


Figure 17 : Pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental.

Considérant que les deux lots étaient au sein du même élevage et soumis aux mêmes conditions d’élevage, aucune différence est signalé pour le taux des souches *E.coli* isolées à partir des deux lots à savoir le lot témoin et le lot expérimental.

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

I.2. Isolement et identification des salmonelles :

I.2.1. Lot témoin :

Sur les 20 sujets autopsiés, 13 souches ont été isolées soit un taux de 65%, dont 11 isolats d'*E.coli* avec un taux de 55% et 2 souches de *Serratiamarcescens* avec un taux de 10%, pour les 7 sujets restants soit un taux de 35% la culture était négative c'est-à-dire aucune poussée n'a été observée (figure 18).

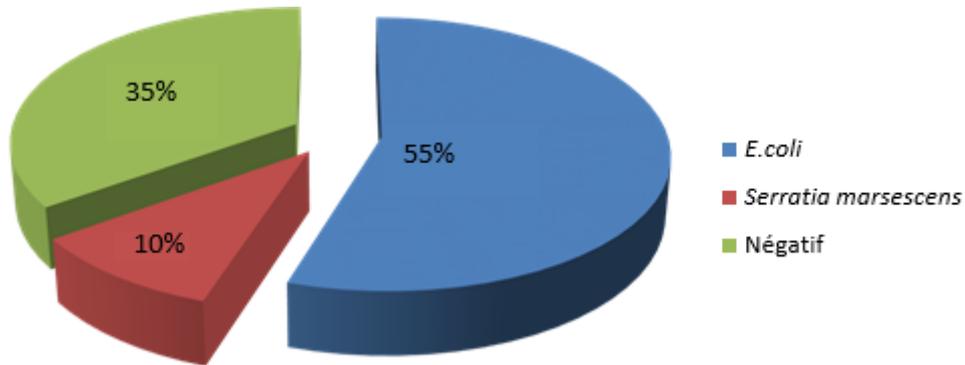


Figure 18: Pourcentage des souches isolées pour le lot témoin.

I. 2.2. Lot expérimental :

Sur les 20 sujets autopsiés, 15 souches ont été isolées soit un taux de 75%, dont 13 isolats d'*E.coli* avec un taux de 65%, une souche *Serratiamarcescens* avec un taux de 5% et une souche *Proteus mirabilis* avec un taux de 5%, pour les 5sujets restants la culture s'est révélée négative avec un taux de 25% (figure 19).

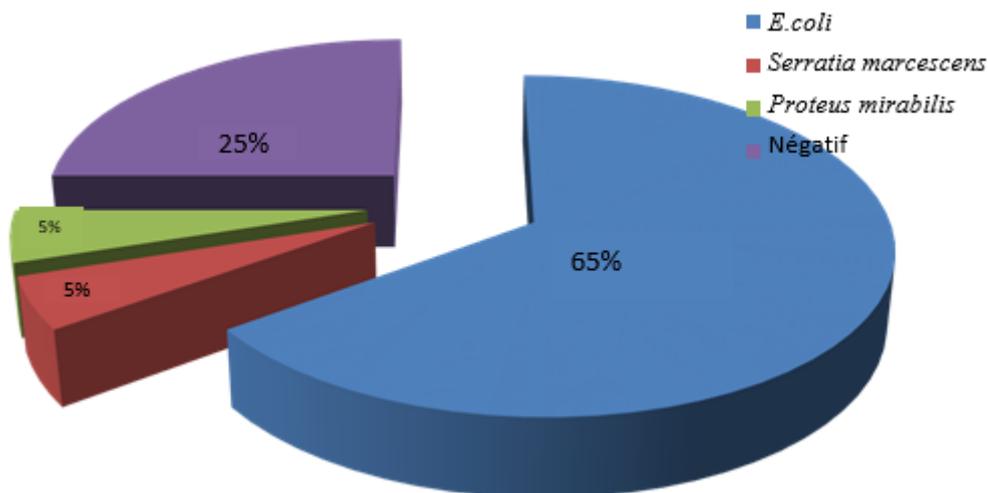


Figure 19 : pourcentage des souches isolées pour le lot expérimental.

L'élevage qui a subi une désinfection rigoureuse ainsi que l'administration du symbiotique qui régule la flore digestive par la présence de bactéries bénéfiques réduisant le pH du contenu intestinal agissant ainsi contre la prolifération des bactéries pathogènes par conséquent l'absence des souches salmonelles malgré le fait qu'elle été favorisé (protocole salmonelles dans partie méthodes).

I. 3. Antibiogramme :

Onze antibiotiques sont testés sur toutes les souches *Escherichia coli* isolées. Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d’une souche en comparant les diamètres des zones d’inhibition de ces souches avec la table de lecture des entérobactéries (vétérinaire) selon les recommandations du standardisation de l’antibiogramme à l’échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6ème édition (2011). Le tableau 6 et la figure 20 montrent les pourcentages de résistances des souches *E. coli* isolées dans cette étude pour le lot témoin et le lot expérimental :

Tableau 6: Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *E. coli* isolées

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

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

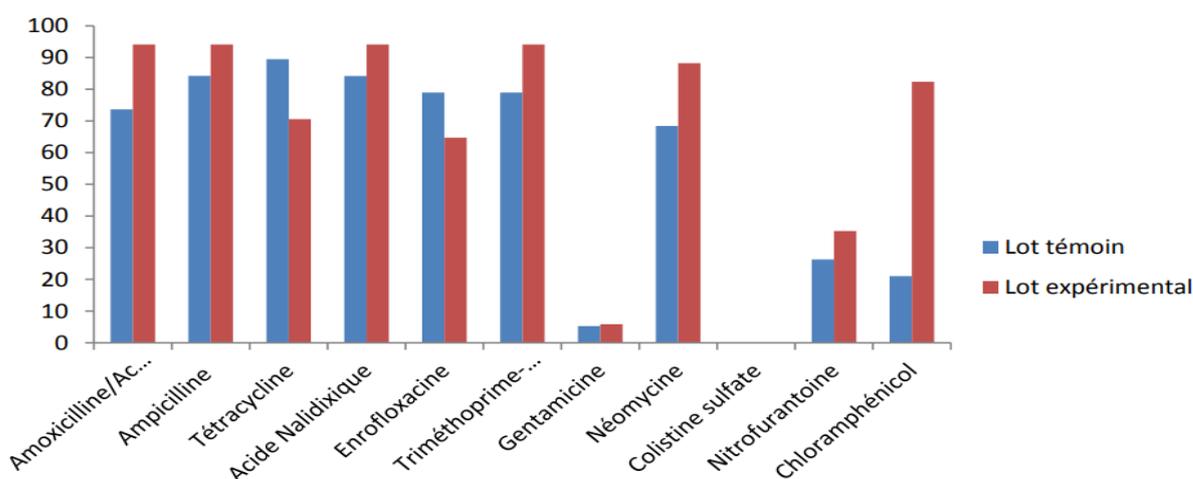


Figure 20 : Pourcentages des résistances des souches *E. coli* entre le lot témoin et le lot expérimental.

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

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

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

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

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

I. 4. Résistances individuelles par famille d'antibiotiques :

I.4.1. β -lactamines :

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

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

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

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

famille comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), soit par production de β -lactamases comme rapporté par Quintiliani et Courvalin (1995).

I.4.2. Les Tétracyclines :

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

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

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

I.4.3. Les sulfamides :

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

Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprim/sulfaméthoxazole, connue sous le nom commercial de Bactrim®. Le taux de résistance enregistré pour cet antibiotique est 78% au sein du lot témoin contre 94% au sein du lot expérimental cet écart était statistiquement non significatif $P > 0,05$.

Ces résultats sont élevés par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) dans la région ouest de l'Algérie ou ils ont enregistré un taux de 42%, ils sont également supérieurs à l'étude de Ammar Ahmed (2009) dans l'ouest Algérien avec un taux de 70%, ainsi que celle de Blanco *et al* (1997a) en Espagne (63%) et Yang *et al* (2004) en Chine (63%). Cependant, ces résultats sont inférieurs à ceux de Bouzagh (2010) au centre d'Algérie (96,4%).

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

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

I.4.4. Les quinolones :

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

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

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

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

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

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

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

I.4.5. Les aminosides :

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

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

Pour la Gentamicine, ces résultats révèlent un taux de résistance de 10,52% au sein du lot témoin contre un taux de 5,88 au sein du lot expérimental, notons que cette différence est non significative $P > 0,05$. Ces résultats sont supérieurs à ceux de Messai (2013) dans la région est de l'Algérie (5,5%). Cependant ils restent inférieurs par rapport à l'étude de Blanco et *al* (1997a) en Espagne ou ils ont enregistré un taux de 14% ainsi que l'étude de Zhao et *al* (2005) aux USA (69%).

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

I.4.6. Les polypeptides :

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

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

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

I.4.7. Les phénicoles :

La sensibilité des souches E. coli isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Ces résultats évoquent un taux de résistance de 21% pour le lot témoin contre 82% pour le lot expérimental, cette différence enregistrée s'est révélée statistiquement significative $P < 0,05$.

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

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

I.4.8. Les furanes :

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

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

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

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

Au final, d'après les résultats des antibiorésistances obtenus au sein des deux lots, il a été affirmé que la supplémentation en symbiotique n'a eu aucun effet sur les bactéries

intestinales c'est-à-dire que la résistance des bactéries aux antibiotiques n'a pas été influencé par le produit symbiotique.

I. 5. Les multirésistances :

I. 5.1. Lot témoin :

Les taux de multirésistances sont présentés dans le tableau 7 et illustrés dans la figure 21.

Ces derniers montrent que parmi les 19 souches isolées, il n'existe aucune souche qui ne soit résistante à aucun antibiotique, les 19 souches sont toutes résistantes à au moins deux antibiotiques avec un taux de 100%.

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

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

Tableau 7: Pourcentages des multirésistances des souches *E. coli* aux antibiotiques (lot témoin)

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

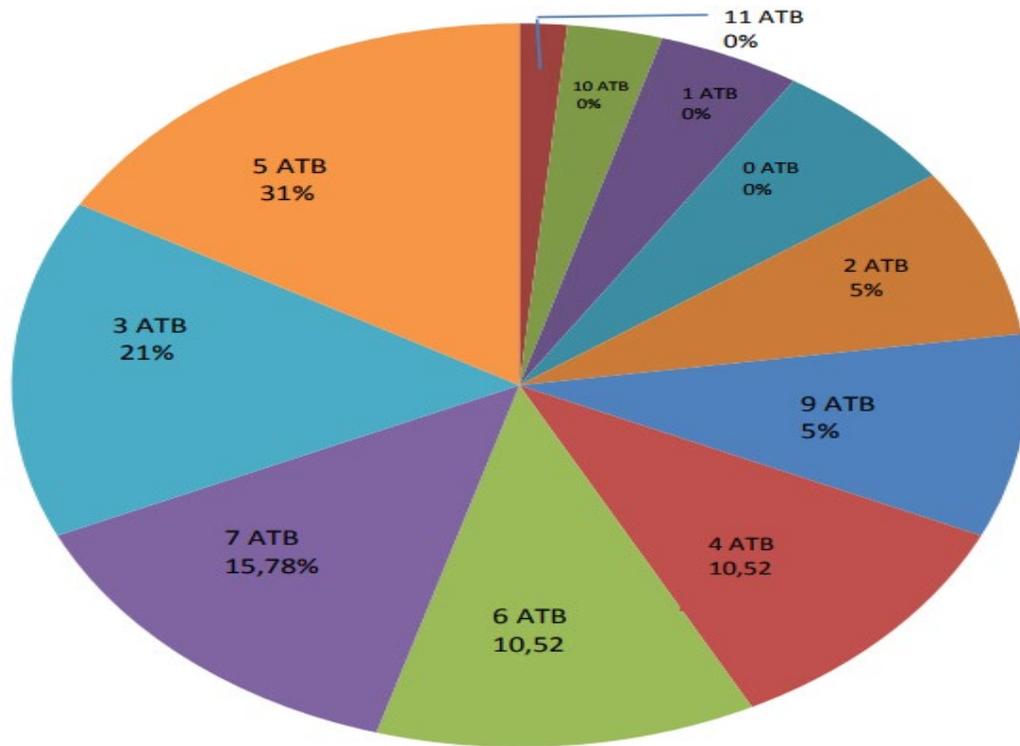


Figure 21 : Pourcentages des multirésistances des souches *E. coli* isolées pour le lot témoin.

I. 5.2. Lot expérimental :

Les taux de multirésistances pour le lot expérimental sont présentés dans le tableau 8 et la figure 22.

Ces derniers montrent que parmi les 17 souches isolées, il n'existe aucune souche qui ne soit résistante à aucun antibiotique, les 17 souches sont toutes résistantes à au moins deux antibiotiques avec un taux de 100%.

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

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

Tableau 8: Pourcentages des multirésistances des souches *E. coli* (lot expérimental)

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

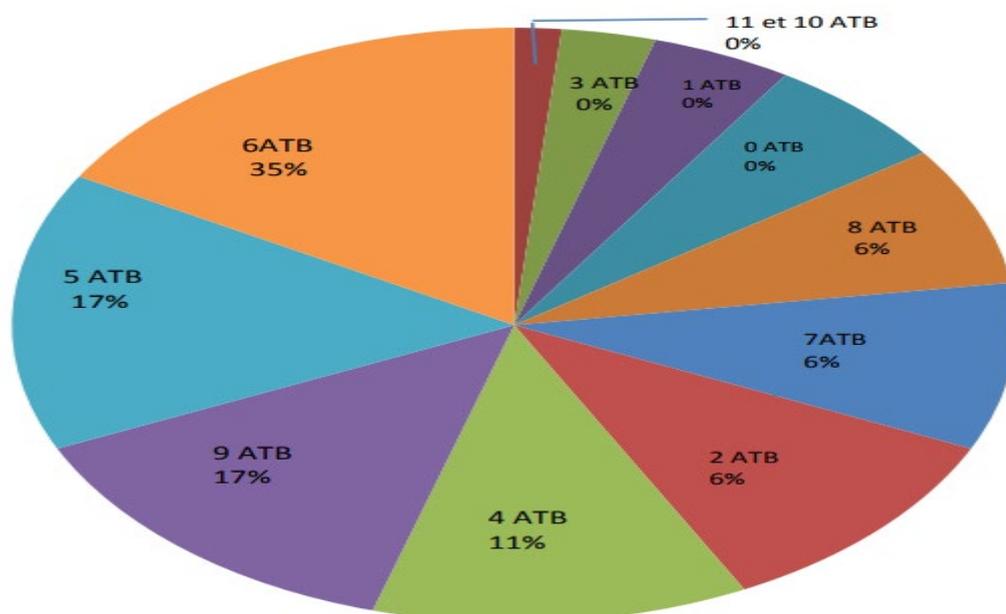


Figure 22: Pourcentages des multirésistances des souches *E. coli* isolées pour le lot expérimental.

Pour le lot témoin les forts pourcentages de multirésistances sont enregistrés vis-à-vis de 5,3 et 7 antibiotiques avec des pourcentages de 31,57%, 21,05%, 15,78% respectivement alors que pour le lot expérimental les forts pourcentages de multirésistances sont enregistrés vis -à- vis de 6, 9 et 5 et 4 antibiotiques avec des pourcentages de 35,29%, 17,64% et enfin 11,76% respectivement.

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

Cependant les forts taux de multirésistances enregistrés dans le lot expérimental par rapport au lot témoin peuvent être expliqués par le changement brusque d'alimentation qui a été effectué à J31.

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

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

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

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

I.6. Les antibiotypes (Les profils de résistances, Phénotypes) :

I.6.1. Lot témoin :

Dans cette étude, 18 antibiotypes différents sont isolés, dont les plus importants sont rapportés dans le tableau 9 .

Tableau 9 : Principaux antibiotypes d'*E. coli* isolés à partir du lot témoin

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

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

I.6.2. Lot expérimental :

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

Tableau 10 : Principaux antibiotypes isolés à partir du lot expérimental

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

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

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

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

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

Pour le lot témoin, une co-résistance vis-à-vis de 6 molécules d'antibiotiques à savoir Amoxicilline/Ac clavulanique, Ampicilline, Acide nalidixique, Enrofloxacin,

Tetracycline, Trimethoprim/ sulfamethoxazole (AUG- AMP- NA- LE- TE- COT) ont été administrés et donc 26,31% de les souches expriment cette co-résistance , elle est présente chez les souches *E. coli* qui ont les profils de multirésistance les plus importants : A, B, C, D. Alors que pour le lot expérimental, également une co-résistance vis-à-vis de 6 molécules d'antibiotiques à savoir Amoxicilline/ Ac clavulanique, Ampicilline, Trimethoprim/ sulfamethoxazole, Acide nalidixique, Enrofloxacin, Tetracycline (AUG-AMP- COT- NA- LE- TE) ont été administrés et donc 35,29% de ces souches expriment cette co-résistance, à savoir les souches *E.coli* représentés par les désignations A, B, C.

Le taux légèrement élevé de Co-résistance enregistré au sein du lot expérimental qui est de 35,29% par rapport au lot témoin 26,31%, peuvent être expliqué par l'épisode dont l'élevage a dû faire face à J31.

Les résultats enregistrés ci-dessus ont été rapportés à J25 et J45,

PS : une erreur d'élevage s'est produite au 31 ère jour ce qui avait affecté énormément les animaux à cette période surtout sur le plan métabolique et immunitaire.

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

I.7. L'étude BLSE :

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

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

Après la recherche des souches BLSE par la technique décrite dans la partie méthode, les résultats de cette étude, démontrent une seule souche BLSE confirmée puisque, cette dernière s'est révélée positive au test de synergie « test de recherche des BLSE » ainsi, qu'au test du double disque qui est le test de confirmation. Au final la prévalence des souches BLSE positive pour cette expérimentation est de 14%.

I. 8. Effet du symbiotique sur la flore coliforme intestinale :

Le tableau 11 et la figure 23 rapportent les résultats relatifs aux dénombrements des coliformes totaux et fécaux ainsi que les *Escherichia coli* chez les poulets témoins et ceux supplémentés en symbiotique évalués à J45 dans les fientes.

Tableau 11 : Nombre de coliformes (totaux et fécaux) ainsi que les *E.coli* dénombré au niveau des fientes à J45, chez les poulets témoins (lot témoin) et ceux supplémentés en symbiotique (lot expérimental).

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

UFC : Unité formant colonies.

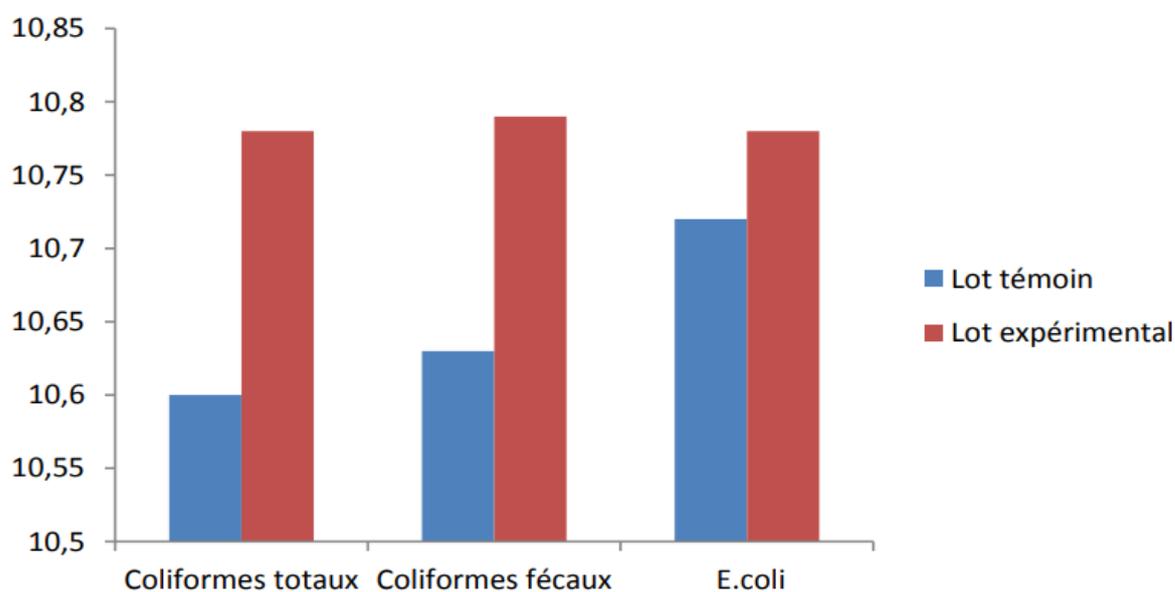


Figure 23 : Effet de la supplémentation en symbiotique sur la flore coliforme à J45.

I.8.1. Comparaison entre le lot témoin et le lot expérimental :

Pour les coliformes totaux et fécaux, les résultats enregistrés révèlent une très légère augmentation chez les poulets du lot expérimental comparé aux poulets du lot témoin, 10,70 UFC/ 25g contre 10,60 UFC/ 25g respectivement pour les coliformes totaux et 10,79 UFC/

25g contre 10,63 UFC/ 25g respectivement pour les coliformes fécaux, comme le présente le tableau 11 et illustre la figure 23.

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

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

I.8.2.1. Coliformes totaux et fécaux :

Dans ces conditions expérimentales, ci-dessous les résultats obtenus :

Les coliformes totaux

Pour le lot témoin : $4,05 * 10^{10}$

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

Les coliformes fécaux

Pour le lot témoin : $4,29 * 10^{10}$

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

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

I.8.2.2. *Escherichia coli* :

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

Pour le lot témoin : $5,28 * 10^{10}$

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

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

L'équipe de recherche a expliqué cette légère hausse signalée chez les poulets supplémentés du lot expérimental en comparaison avec ceux du lot témoin, par l'incident d'élevage survenu à J31 (voir discussion générale).

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

Le déséquilibre de la flore intestinale chez la volaille est responsable en premier degré de problèmes de diarrhée, or durant toute cette expérimentation aucun des problèmes de diarrhées ni une litière humide a été noté .Une litière humide est un milieu favorable pour la fermentation microbienne et le dégagement par conséquence d'ammoniac, qui représente

l'une des premières causes de maladies respiratoires chez la volaille. Cependant ce dernier s'est révélé dans les normes acceptables au sein du bâtiment (voir taux d'ammoniac dans partie méthodes).

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

I.9. Effet du symbiotique sur la flore aérobie mésophile totale (FAMT) :

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT), chez les poulets témoins (lot témoin) et ceux supplémentés en symbiotique (lot expérimental), évalué à J45 au niveau du bréchet est rapporté dans le tableau 12 et la figure 24.

Tableau 12 : Nombre de colonies représentant la FAMT mesuré au niveau du bréchet, à J45 pour les poulets témoin (lot témoin) et ceux supplémentés (lot expérimental).

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

UFC : Unité formant colonies

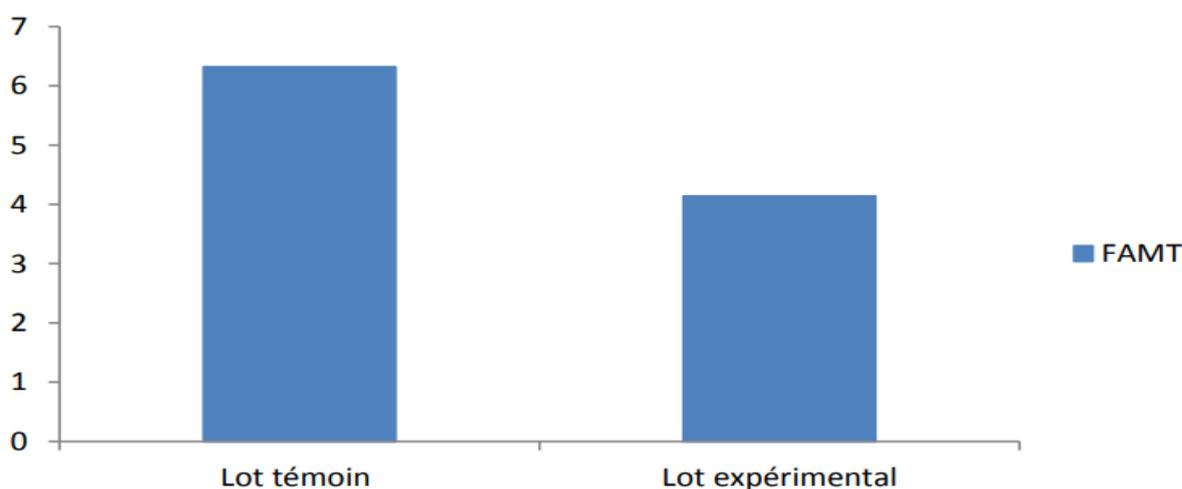


Figure 24 : Effet du symbiotique sur la flore aérobie mésophile totale à J45.

I.9.1. Comparaison entre le lot témoin et le lot expérimental :

Les résultats montrent, une baisse considérable du nombre de bactéries de la FAMT 6,32 UFC/ 25g respectivement soit une baisse de 34%, ceci démontre une qualité enregistrée chez

le lot expérimental à J45 comparé au lot témoin : 4,14 UFC/ 25g contre sanitaire de viande meilleure chez les poulets supplémentés en symbiotique par rapport aux poulets témoins.

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

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

Pour le lot témoin : $2,12 \cdot 10^6$

Pour le lot expérimental : $1,39 \cdot 10^4$

Ces résultats se révèlent bon comparé au seuil maximal toléré dans la viande et qui fixé à 10^7 UFC/g.

Cette étude démontre, une meilleure qualité sanitaire de la viande au sein du lot expérimental, comparé à la viande du lot témoin, ceci est expliqué par l'effet des bactéries probiotiques utilisées, ces dernières agissent au niveau intestinal et participent à l'équilibre de la flore en favorisant la croissance des bactéries bénéfiques pour l'hôte et cela en créant par différents mécanismes un environnement défavorable à la survie des bactéries pathogènes.

Un environnement intestinal stable et équilibré améliore l'état de santé de l'hôte et par conséquent son système immunitaire qui devient plus performant comme le révèle l'étude de Kobayashi et al 2002 avec l'utilisation d'une souche de *Bifidobacteriumthermophilum* ou ils ont démontré une protection vis-à-vis d'une infection expérimentale par *Escherichia coli* (effet immunostimulateur) ceci confirme une meilleure réponse immunitaire systémique par le biais de la stimulation de l'évolution des IgM en IgG (Sato et al., 1986) et donc une neutralisation systémique perpétuelle des bactéries .

Ces résultats rejoignent l'explication avancée concernant le dénombrement des coliformes. Le dénombrement des coliformes s'est révélé plus important chez les poulets supplémentés en comparaison avec les poulets témoins, cependant cette élévation est restée sans danger majeur et ceci est appuyé par les résultats obtenus pour la FAMT qui confirment une meilleure qualité sanitaire de la viande des poulets supplémentés.

Conclusion

&

Perspectives

Conclusion :

Rappelons que l'expérimentation est faite par une équipe de recherche à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger et s'est portée sur l'impact d'une addition en symbiotique sur les antibiorésistances envers *E. coli*, la microflore intestinale ainsi que la qualité sanitaire de la viande.

Cette dernière a révélé qu'aucune amélioration d'antibiorésistance d'*E. coli* n'a été enregistré suite à l'addition en symbiotique.

Aussi, aucun effet positif n'a été rapporté concernant les coliformes totaux et fécaux après cet apport en symbiotique, même que le lot supplémenté a révélé un dénombrement de coliformes plus important au niveau des fientes que chez le lot témoin. Toute fois cet apport a permis une réduction du nombre de bactéries que renferme la flore aérobie mésophile totale.

Les résultats de cette étude sont intéressants et suscitent l'attention pour des éventuels essais et expérimentations afin de montrer que les symbiotiques peuvent être l'avenir en ce qui concerne les élevages, et ainsi s'en passer des antibiotiques surtout que les résultats ont été obtenu dans des conditions locales et après un déséquilibre, rapidement récupéré en particulier par les poulets ayant reçu l'apport en symbiotique, après l'incident survenu le 31^{ème} jour.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abrams S. A., Griffin I. J., Hawthorne K. M., Liang L., Gunn S. K., Darlington G., and Ellis K. J., (2005). A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents, *Am J Clin Nutr*, vol. 82, no. 2, pp. 471–476,.

AFSSA, (2006). Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquence pour la santé humaine. Fougères : AFSSA. -232 p.

Albano H, Todorov S.D, Van Reenen C.A, Hogg T, Dicks L.M.T, et Teixeira P., (2007).Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from “Alheira”, a fermented sausage traditionally produced in Portugal. *Int J Food Microbiol* 116): 239 –247.

Alemu, R., Nyachoti, C. M., (2018). Application of resistant starch in swine and poultry diets with particular reference to gut health and function. *Animal Nutrition*. 4, 305-310.

Almargot J., (1982). L'appareil digestif et ses annexes,. In : Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires. Edition : Le point vétérinaire. 15-32

Alvarez-Olmos M. I. and Oberhelman R. A., (2001).Probiotic agents and infectious diseases: A modern perspective on a traditional therapy. *Clinical Infectious Diseases* 32(11): 1567-1576.

Anhê FF, Nachbar RT, Varin TV et al, (2017). A polyphenol-rich cranberry extract reverses insulin resistance and hepatic steatosis independently of body weight loss. *MolMetab* ; 6 : 1563–1573. [CrossRef] [PubMed] [Google Scholar].

Apajalahti J., Kettunen A., Graham H. (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *Poult. Sci.* 60,223-232.

Archambaud M., (2009). Les antibiotiques mode d'action, mécanismes de résistance, les principales familles. Laboratoire Bactériologie-Hygiène. CHU Rangueil Toulouse.

Arslanoglu S, Moro GE, Schmitt J, Tandoi L, Rizzardi S, Boehm G. (2008).Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J Nutr*;138(6):1091-5.

Asahara T, Nomoto K, Shimizu K, Watanuki M, Tanaka R., (2001). Increased resistance of mice to *Salmonella enteric* serovar Typhimurium infection by synbiotic administration of bifidobacteria and transgalactosylated oligosaccharides. *J Appl Microbiol.* 91: 985-996.

Asahara T, Shimizu K, Nomoto K, Hamabata T, Ozawa A, Takeda Y., (2004). Probiotic bifidobacteria protect mice from lethal infection with shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun.* 72: 2240-2247.

Asensio C, Perezdiaz J. C. et al., (1976). New Family of Low-Molecular Weight Antibiotics from Enterobacteria. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 69(1): 7-14.

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

B

Bäumler A.J., Sperandio V., (2016). Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature.* 535, 85-93. doi: 10.1038/nature18849.

Ben Abdallah N., (2010). Isolement et caractérisation de bactéries à fort potentiel probiotique à partir du tractus gastro-intestinal de la volaille. Mémoire pour l'obtention du grade de maitre ès sciences (M.Sc) en microbiologie agroalimentaire. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université Laval, Québec. 1-78.

Benaoumer S.N., Addou S., Zerrouk G., Saidi D., Kheroua O., (2016). Effet des prébiotiques sur la réponse immunitaire intestinale chez des souris Balb/c nouveau-nés. *Revue Française d'Allergologie*, 56(3), 302).

Bengmark S., (2000). "Colonic Food: Pre- and Probiotics," *The American journal of gastroenterology*, vol. 95, no. 1, pp. 9–11.

Berggren A, Lazou Ahrén I, Larsson N, Onning G., (2011). Randomised, double-blind and placebo-controlled study using new probiotic lactobacilli for strengthening the body immune defence against viral infections. *European Journal of Nutrition* 50(3):203-210.

Bermudez-Brito M, Sahasrabudhe NM, Rösch C, Schols HA, Faas MM, De Vos P (2015). The impact of dietary fibers on dendritic cell responses in vitro is dependent on the differential effects of the fibers on intestinal epithelial cells. *Mol Nutr Food Res.*; 59(4):698–710.

Bernardeau M and Vernoux JP., (2009). Overview of the use of probiotics in the Feed/Food chain. In: *Probiotics: Production, Evaluation and Uses in Animal Feed*, 2009: 15-45. Editors: Nelson Pérez Guerra and Lorenzo Pastrana Castro. *Biotechnology & Applied Biochemistry*, Kerala, India. ISBN: 978-81-308-0323-4.

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

Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL., (1993). Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Appl Environ Microbiol.* 59: 4121-4128

Biavati B., Vescovo M., Torriani S., Bottazzi V. (2000). Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annales of Microbiology.*, 50, 117-131.

Bjerrum L, Engberg R, Leser T, Jensen B, Finster K & Pedersen K., (2006). Microbial Community Composition of the Ileum and Cecum of Broiler Chickens as Revealed by Molecular and Culture-Based Techniques. *Poult. Sci.* 85: 1151-1164.

Boehm G, Jelinek J, Knol J, et al, (2004). Prebiotics and immune responses. *J PediatrGastroenterolNutr;* 39 Suppl 3:S772-3.

Borselli D., (2017). Adjuvants pour limiter la consommation d'antibiotiques en médecine vétérinaire. Faculté de médecine. Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé. Université Aix-Marseille.

Bouchaib M.A., (2017). Etude descriptive radiologique et échographique du tube digestif chez le canard. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magistère en Production Animale Option Aviculture. Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques. Université Batna1.

Bouzouaia M., (2019). Physiologie digestive, particularités, mécanismes de digestion, d'absorption chez le poulet de chair. Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire. Sidi-Thabet. Tunisie.

Braun M., Killmann H. et al., (2002). Diffusion through channel derivatives of the Escherichia coli FhuA transport protein." *European Journal of Biochemistry* 269(20): 4948-4959.

Braun V., Patzer S. I. et al., (2002). Ton-dependent colicins and microcins: modular design and evolution. *Biochimie* 84(5-6): 365-380.

Bruno FA, and Shah NP., (2002). Inhibition of pathogenic and putrefactive microorganisms by Bifidobacterium sp. *Milchwissenschaft.* 57: 617-621.

C

Calder P. C. and Kew S., (2002). The immune system: a target for functional foods? *British Journal of Nutrition* 88: S165-S176.

Candela M, Seibold G, Vitali B, Lachenmaier S, Eikmanns BJ, Brigidi P., (2005). Real-time PCR quantification of bacterial adhesion to Caco-2 cells: Competition between bifidobacteria and enteropathogens. *Res Microbiol.* 156: 887-895

Cani PD, Dewever C, Delzenne NM,(2004).Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br J Nutr*; 92 : 521–6.

Cani PD, Joly E, Horsmans Y, et al, (2006).Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. *Eur J Clin Nutr*; 60 : 567–72.

Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, et al, (2007).Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*; 50 : 2374–83.

Cani PD, Neyrinck AM, Maton N, et al, (2005). Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like Peptide-1. *ObesRes*; 13 : 1000–7.

Cao Z. and Klebba P. E., (2002). Mechanisms of colicin binding and transport through outer membrane porins. *Biochimie* 84(5-6): 399-412.

Capitan-Canadas F, Ortega-Gonzalez M, Guadix E, Zarzuelo A, Suarez MD, de Medina FS, et al, (2014).Prebiotic oligosaccharides directly modulate proinflammatory cytokine production in monocytes via activation of TLR4. *MolNutr Food Res.*; 58(5):1098–110.

Carlson JL, Erickson JM, Lloyd BB, Slavin JL, (2018). Health effects and sources of prebiotic dietary fiber. *CurrDevNutr*; 2(3):nzy005.

Cartelo L.M., (2017). Effet d'un symbiotique sur la charge microbienne pathogène chez le poulet de chair et son impact épidémiologique sur la prévalence des antibiorésistances. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magistère en sciences vétérinaires ; option épidémiologie des maladies animales et santé publique. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger.

Chafai, S. (2006). Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances zootechnique du poulet de chair.

Champagne C. P., Gardner N. J., et al., (2005).Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45(1): 61-84.

Chardon H, Brugère H.,(2014). Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes *Cahiers SÉCURITÉ SANITAIRE SANTÉ ANIMALE*, 43p.

Collins Md., Samelis J., Metaxopoulos J. et Wallbanks S., (1993). Taxonomic studies of some *Leuconostoc*- like organisms from fermented sausages. Description of a new genus *Weissella* for *Leuconostoc paramesenteroïdes* group of species. *J. Appl. Bacteriol*vol.75. 595-603.

Courvalin P., (2008). Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2796.2008.01940.x/full>.

Czerucka D., Piche T. et Rampal R. Review article : yeast as probiotics -*Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. John Wiley and Sons, 2007, 26

D

David M. G., Oliver E. et al., (2007). The diversity of bacteriocins in Gram-negative bacteria. *Bacteriocins: Ecology and Evolution*. M. A. Riley and M. A. Chavan.

De Vos P., et al. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 3^e édition. New York :Springer, 2009. pp. 464-735. Vol. 3.

De Kivit S, Saeland E, Kraneveld AD, Van De Kant HJG, Schouten B, Van Esch BCAM, et al, (2012). Galectin-9 induced by dietary synbiotics is involved in suppression of allergic symptoms in mice and humans. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.*;67(3):343–52.

De Lorenzo V., (1984). Isolation and Characterization of Microcin E-492 from *Klebsiella pneumoniae*. *Archives of Microbiology* 139(1): 72-75.

de Vrese M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J., (2001). Probiotics - compensation for lactase insufficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73(2):421-429

DeKivit S, Kostadinova AI, Kerperien J, Morgan ME, Muruzabal VA, Hofman GA, et al, (2017). Dietary, nondigestible oligosaccharides and *Bifidobacterium breve* M-16V suppress allergic inflammation in intestine via targeting dendritic cell maturation. *J Leukoc Biol.*; 102(1):105–15.

Delzenne NM, Cani PD, Daubioul C, et al, (2005). Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. *Br J Nutr*; 93 (suppl 1) : S157–61.

Demoré B, Grare M, Duval R. (2012). *Pharmacie clinique et thérapeutique* 4^e édition. Chapitre 40 : Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson.

Deng Y, Ryu JH, Beuchat LR., (1999). Tolerance of acid adapted and non adapted *Escherichia coli* O157:H7 cells to reduced pH as affected by type of acidulant. *J Appl Microbiol.* 88: 203-210.

Dierick N., Decuyper J., Molly K., Van Beek E., and Vanderbeke E., (2002). The combined use of triacylglycerols (TAGs) containing medium chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotics in piglet nutrition, *Livestock Production Science*, vol. 76, no. 1–2, pp. 1–16.

Dierick N., Decuyper J., Molly K., Van Beek E., and Vanderbeke E., (2002). The combined use of triacylglycerols (TAGs) containing medium chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotics in piglet nutrition, *Livestock Production Science*, vol. 76, no. 1–2, pp. 1–16.

Dirix G., Monsieurs P. et al., (2004).Peptide signal molecules and bacteriocins in Gram-negative bacteria: a genome-wide in silico screening for peptides containing a double-glycine leader sequence and their cognate transporters. *Peptides* 25(9): 1425-1440.

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

E

Ebel B, Lemetais G, Beney L, Cachon R, Sokol H, Langella P, Gervais P., (2012). Could probiotics prevent cardiovascular diseases? A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* DOI: 10.1080/10408398.2011.579361.

Ecker K. F., (1992). Bacteriocin and food applications. *Dairy Food And Environmental Sanitation* (12): 204-209.

Edens F.W., (2003). An alternative for antibiotics use in poultry: Probiotics. *Rev. Bras. Cienc. Avic.,Vol.5. N°.2*

Edouard Nagera S, Haddad V, Calcagno F, Colson P., (2011).Infectiologie conforme au programme du CNCI - Pharma-Memo. Paris: Vernazobres-Grego; ECN Pilly 2014. Item n°173 : Prescription et surveillance des anti-infectieux [Internet]. [cited 2015 May 24]. Available from:

http://www.infectiologie.com/site/medias/enseignement/ECN/ECN.PILLY2014_item173web.pdf

Eiwegger T, Stahl B, Haidl P, Schmitt J, Boehm G, Dehlink E, et al,(2010). Prebiotic oligosaccharides: In vitro evidence for gastrointestinal epithelial transfer and immunomodulatory properties. *Pediatr Allergy Immunol*; 21(8):1179–88.

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

F

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

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

Farner D.S, (1943). Gastric Hydrogen Ion Concentration and Acidity in the Domestic Fowl. *Poultry Science*. 22, 79–82.

Feuillet, L. (2007). Étude comparative des vaccins et des flores bactériennes dans la lutte contre les Salmonelles en élevage de poules pondeuses. Médecine vétérinaire. Alfort, École Nationale vétérinaire d'Alfort: 17-21.

Fooks L.J. and Gibson, G. R., (2002). Probiotics as modulators of .the gutflora. Brit. J. Nutr., 88, suppl. I: 39-49.

Fosseprez P., (2013). Antibiothérapie en pratique de ville : Constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance. [Nancy]: Faculté dePharmacie.

Fujitani S, Ueno K, Kamiya T, Tsukahara T, Ishihara K, Kitabayashi T et al, (2007).Increased Number of CCR4-positive Cells in the Duodenum of Ovalbumin- induced Food Allergy Model NC/jic Mice and Ant allergic Activity of Fructooligosaccharides. Allergol Int.; 56(2):131–8.

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

G

Gabriel I., Mallet S., et al. (2005). Digestive microflora of bird: factors of variation and consequences on bird. Productions Animales 18(5): 309-322.

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

Gareau MG, Sherman PM, Walker WA., (2010). Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology 7(9):503-514.

Gill H, Prasad J., (2008). Probiotics, immunomodulation, and health benefits. Bioactive Components of Milk 606:423-454.

Gillor, O., Kirkup B. C. et al., (2004). Colicins and microcins: the next generation antimicrobials. Advances in Applied Microbiology 54: 129-46.

Gillor, O., Nigro L. M. et al., (2005). Genetically engineered bacteriocins and their potential as the next generation of antimicrobials." Current Pharmaceutical Design 11(8): 1067-1075.

Gong J, Si W, Forster RJ, et al. (2007). 16S rRNA gene-based analysis of mucosa-associated bacterial community and phylogeny in the chicken gastrointestinal tracts: from crops to ceca. FEMS Microbiol. Ecol. 59: 147-157.

Gonzalez L., Sandoval H., Sacristan N., Castro J.M., Tornadijo ME., (2007). Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. Food Control., 18:716-722.

Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M., (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *The Lancet*;365(9459):579-87.

Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L et al, (2018). Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*; 359: 97–103. [CrossRef] [PubMed] [Google Scholar].

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

Guillot J.F., (1998). Les probiotiques en alimentation animale. *Cahiers Agricultures* ; 7 :49-54.

Guiraud J.P. et Rosec J.P., (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. 237-251.

Guiraud J.P., (2003). *Microbiologie Alimentaire*. Tec & Doc, Dunod. Paris. 90-292.

Gurira O.Z., Buys E.M., (2005). Characterization and antimicrobial activity of *Pediococcus* species isolated from South African farm-style cheese. *Food Microbiology*., 22:159-168.

H

Haddie J.M., (1986). Other streptococci. In : *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1 : 1070.

Hassan A.N. et Frank J.F., (2001). Starter Cultures and their use. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker Inc. New York. 151-205.

Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R., (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.

Holzappel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, Schillinger U., (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr*. 73: 365S-373S.

Hopkins MJ, Macfarlane GT. (2003). Non-digestible oligosaccharides enhance bacterial colonization resistance against *Clostridium difficile* in vitro *Appl Environ Microbiol*; 69(4):1920_7.

Hütt P, Shchepetova J, Loivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar., (2006). Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *J Appl Microbiol*. 100: 1324-1332

I

Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukee P, Koivula T., (1991).A human Lactobacillus strain (Lactobacillus casei sp. strain GG) promotes recovery from acute diarrhoea in children. *Pediatrics*. 88: 90-97.

Isolauri E., Kirjavainen P. V. and Salminen S., (2002).Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation. *Gut*. Université de Laval, Québec, 50 pp: 54-59.

Isolauri E., Sutas Y., et al. (2001). Probiotics: effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition* 73(2): 444S-450.

Izquierdo E., (2009). Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Tèse de l'Université de Strasbourg.

J

Jacobsen CN, Nielsen VR, Hayford A, Møller P, Michaelsen K, Paerregaard A, Sandström B, Tvede M, Jakobsen M., (1999).Screening of probiotic activities of forty-seven strains of Lactobacillus spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and Environmental Microbiology* 65(11):4949-4956.

Jankovic I, Sybesma W, Phothirath P, Ananta E, Mercenier A., (2010). Application of probiotics in food products--challenges and new approaches. *Current Opinion in Biotechnology* 21(2):175-181.

Jordan, F. T. W. and M. Pattison (1996). Poultry diseases. S. company. London: 38-43.

K

Kaiser A. L. and Montville T. J., (1993). The Influence of Ph and Growth-Rate on Production of the Bacteriocin, Bavarian Mn, in Batch and Continuous Fermentations." *Journal of Applied Bacteriology* 75(6): 536-540.

Karaoglu M., and Durdag H., (2005).The influence of Dietary Probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) Supplementation and Different Slaughter Age on the Performance, Slaughter and Carcass Properties of Broilers. *International Journal of Poult. Sc.*, 4(5) : 309-316.

Kaur I. P., Kuhad A. et al., (2009).Probiotics: Delineation of Prophylactic and Therapeutic Benefits. *Journal of Medicinal Food* 12(2): 219-235.

Kawai T, Akira S, (2011). Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. *Immunity*.;34(5):637–50.

Klaenhammer T. R., (1988). Bacteriocins of Lactic-Acid Bacteria. *Biochimie* 70(3): 337-349.

Klaenhammer TR., (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Rev. 12: 39-85.

Kozak W., Bardowski J. et al., (1978).Lactostrepcins - Acid Bacteriocins Produced by Lactic Streptococci. Journal of Dairy Research 45(2): 247-257.

Kralik G., Milakovic Z., Ivankovic S., (2004). Effect of probiotic supplementation on the performance and the composition of the intestinal microflora in broilers. Acta. Agraria Kaposvariensis., 8 (2) :23-31.

Kruis W, Frič P, Pokrotnieks J, Lukáš M, Fixa B, Kaščák M, Kamm M, Weismueller J, Beglinger C, Stolte M., (2004). Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. Gut 53(11):1617-1623.

Kuçukersan K., Tuncer S.D., Sanli Y., Midilli M., Goncuoglu E., Kuçukersan S., and Tan H., (2002). The effects of dietary stabilized rumen extract (SRE) and virginiamycine on performance and carcass yield of broilers. Méd. Vét., 153(11): 723-726.

L

Lan P.T., Hayashi H., Sakamoto M., Benno Y., (2002). Phylogenetic analysis of cecal microbiota in chicken by the use of 16S rDNA clone libraries. Microbiology and Immunology. 46, 371-382.

Larbier M., Leclercq B., (1992).Nutrition et alimentation des volailles. Absorption des nutriments. Nutrition et alimentation des volailles, édit. INRA. 38 - 47.

Lazdunski C, Bouveret E. et al., (2000).Colicin import into Escherichia coli cells requires the proximity of the inner and outer membranes and other factors. International Journal of Medical Microbiology 290(4-5): 337-344.

Lazzaroni, J. C, Dubuisson J. F. et al., (2002).The Toi proteins of Escherichia coli and their involvement in the translocation of group A colicins. Biochimie 84(5-6): 391-397.

Le Blay G, Fliss I, Lacroix C., (2004). Comparative detection of bacterial adhesion to Caco-2 cells with ELISA, radioactivity and plate count methods. J Microbiol Meth. 59: 211- 221.

Lehmann S, Hiller J, Van Berghenegouwen J, Knippels LMJ, Garssen J, Traidl-Hoffmann C. (2015).In vitro evidence for immune-modulatory properties of non-digestible oligosaccharides: Direct effect on human monocyte derived dendritic cells. PLoS One.; 10(7):1–15.

Liu H. W., Tong J. M., and Zhou D. W., (2011). Utilization of Chinese Herbal Feed Additives in Animal Production, Agricultural Sciences in China, vol. 10, no. 8, pp. 1262–1272.

M

- Maillard R., (2002).** Antibiothérapie respiratoire. *La Dépêche Vétérinaire*, 80: 15- 17p.
- Mainil J. (2003).** Virulence factors and specific properties of invasive *Escherichia coli*: I) Adhesins and colonisation factors. *Annales De Médecine Vétérinaire* 147(2): 105-+.
- Mainil J. (2003).** Virulence factors and specific properties of invasive *Escherichia coli*: n. Mucosal transfer and invasive properties. *Annales De Médecine Vétérinaire* 147(3): 159-171.
- Mainil J. and S. Van Bost (2004).** Virulence factors and specific properties of invasive *Escherichia coli* : IV) Necrotoxigenic strains. *Annales De Médecine Vétérinaire* 148(3): 121-132.
- Mañé J, Pedrosa E, Lorén V, Gassull M, Espadaler J, Cuñé J, Audivert S, Bonachera M, Cabré E., (2011).** A mixture of *Lactobacillus plantarum* CECT 7315 and CECT 7316 enhances systemic immunity in elderly subjects. A dose-response, double-blind, placebo-controlled, randomized pilot trial. *Nutrición Hospitalaria* 26(1):228-235.
- Matson V, Fessler J, Bao R et al,(2018).** The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science*; 359 : 104–108. [CrossRef] [PubMed] [Google Scholar].
- McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA et al., (1994).** A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile*. *JAMA*. 271: 1913-1918.
- Mead G., (1989).** Microbes of the avian cecum: types present and substrates utilized. *The Journal of Experimental Zoology* 3: 48-54.
- Mehdi Y., Létourneau-Montminy M.P., Gaucher M.L., Chorfi Y., Gayatri S., 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 Journal*. 4, 170-178.
- Moayyedi P, Ford AC, Talley NJ, Cremonini F, Foxx-Orenstein AE, Brandt LJ, Quigley EMM., (2010).** The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut* 59(3):325-332.
- Moro G, Arslanoglu S, Stahl B, Jelinek J, Wahn U, Boehm G,(2006).** A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Arch Dis Child*;91(10):814-9.
- Muylaert A., Mainil J.G., (2015).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » [Internet]. Available from: http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2012_156_2_04.pdf

N

Nista E, Candelli M, Cremonini F, Cazzato I, Zocco M, Franceschi F, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A., (2004). Bacillus clausii therapy to reduce side-effects of anti-Helicobacter pylori treatment: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 20(10):1181-1188.

O

Oelschaeger T.A. Mechanisms of probiotic actions – A review. *International Journal of Medical Microbiology*. 2010, 300, pp. 57-62.

Ogier J.C., Casalta E., Farrokh C. et Saïhi A., (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The Leuconostoc genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126 : 286-290.

P

Passeron T, Lacour J-P ., Fontas E, Ortonne J-F,(2005). Traitement de la dermatite atopique par prébiotiques et symbiotiques : étude comparative randomisée chez l'enfant de plus de 2 ans. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.*;132(6-7):599-600.

Patel S., Goyal, A., (2012). The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. *3 Biotech.* 2, 115–125.

Perry JJ, Staley JT, Lory S (2004). Bactéries Gram-Positives: Firmicutes et Actinobacteria. In: *Microbiologie*. Dunod éd., Paris. France. pp. 471-50.

PietroFemia A., Luceri C., Dolara P., Giannini A., Biggeri A., Salvadori M., Clune Y., Collins K. J., Paglierani M., and Caderni G., (2002). Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats., *Carcinogenesis*, vol. 23, no. 11, pp. 1953–60.

Pilet M.F., Magras C., Federighi M., (1998). Bactéries lactiques. In : *Manuel de bactériologie alimentaire* (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). Polytechnica. Paris. 235-260.

Pons A. M., I. Lanneluc, et al., (2002). New developments in non-post translationally modified microcins. *Biochimie* 84(5-6): 531-537.

Prantera C, Scribano M, Falasco G, Andreoli A, Luzi C., (2002). Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus GG*. *Gut* 51(3):405-409.

Prescott LM, Harley JP, Klein DA (2003). Les bactéries: les Gram positif pauvre en GC. In : « *Microbiologie* ». 2ème édition Française. Paris, pp. 529-572.

Prioult G., (2003). Effet des probiotiques sur l'introduction et le maintien de la tolérance orale à la β -lactoglobuline chez la souris et étude de leurs mécanismes d'action. Thèse pour

l'obtention du grade de Ph.D en science de l'agriculture et de l'alimentation. Université Laval. Québec. 1-157.

R

Rahal K., (1999). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, I.N.S.P Algérie.

Ravat F, Jault P, Gabard J, (2015).Bactériophages et phagothérapie: utilisation de virus naturels pour traiter les infections bactériennes. *Ann Burns Fire Disasters*;28:13-20.

Régis T., (2012). École normal supérieure de Lyon,Chicorée et endive,<http://www.ens-lyon.fr/>.

Roberfroid M. B., (2002).“Inulin/oligofructose and anticancer therapy,” *British Journal of Nutrition*, vol. 87, no. 6, pp. 283–286.

Rolfe R. D., (2000). The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastro intestinal Health. *J. Nutr.*, 130: 396–402.

Rouissi A., (2020). Modulation de la santé digestive des poulets alimentés sous antibiotiques. Thèse pour l'obtention du grade de Ph.D en Sciences animales. Université Laval, Québec. 1-192.

Rousseau V., (2004). Evaluation d'oligosaccharides à effet prébiotique vis-à-vis de la microflore vaginale. Thèse de doctorat dissertation, Institut National des sciences Appliquées de Toulouse.pp.33.

Routy B, Le Chatelier E, Derosa L et al,(2018).Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*;359 : 91–97. [CrossRef] [PubMed] [Google Scholar].

Ruiz-Moyano S, Martín A, Benito MJ, Nevado FP, de Guía Córdoba M., (2008). Screening of lactic acid bacteria and bifidobacteria for potential probiotic use in Iberian dry fermented sausages. *Meat Science* 80(3):715-721.

S

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

Salm-Surv G. (2005).un reseau de l'OMS pour la surveillance des maladies d'origine alimentaire, OMS.

Sanders P, Bousquet-Mélou A, Chauvin C, Toutain PL., (2011). Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Productions Animales*. 2011;24(2):199-204.

- Sanz Y., De Palma G. (2009).** Gut Microbiota and Probiotics in Modulation of Epithelium and Gut-Associated Lymphoid Tissue Function. *International Reviews of Immunology*. 28, 397-413. doi: 10.3109/08830180903215613.
- Scardovi V., (1986).** Genus *Bifidobacterium* Orla Jensen, 1924, 472. In: *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*, IXe Edition. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Schleifer K.H., (1987).** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters*. 46 : 201-203.
- Schleifer K.H., et Kilpper-Balz R., (1984).** Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. , *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34, 31–34.
- Schleifer K.H., et Kilpper-Balz R., (1987).** Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review. *Syst. Appl. Microbiol.* 10, 1– 19.
- Schley PD, Field CJ,(2002).** The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *Br J Nutr*; 87, Suppl 2:S221-30.
- Schneider R., Fernandez F.J., Aguilar M.B., Guerrero-Legarreta I., Alpuche-Solis A., Ponce-Alquicira E., (2006).** Partial characterization of a class IIa pediocin produced by *Pediococcus parvulus* 133 strain isolated from meat (Mexican “chorizo”). *Food Control.*, vol.17. 909-915.
- Schwarz S, Kehrenberg C, Walsh TR., (2001).** Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int J Antimicrob Agents*, 17(6):431-7.
- Servin AL, and Coconnier MH., (2003).** Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Pract Res Clin Gastro enterol.* 17: 741-754.
- Servin AL., (2004).** Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev.* 28: 405-440.
- Shakouri M, Iji P, Mikkelsen L & Cowieson A., (2009).** Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 93: 647-658.
- Simon O., A. Jadamus, et al., (2001).** Probiotic feed additives - effectiveness and expected modes of action. *Journal of Animal and Feed Sciences* 10: 51-67.
- Simpson W.J., Taguchi H., (1995).** The genus *Pediococcus* with notes on the genera *Tetragenococcus* and *Aerococcus*. In the *Genera of Lactic Acid Bacteria*. Wood B.J.B., Holzappel W.H., Chapman & Hall, London., 125-172.
- Slavin J, (2013).** Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*; 5(4):1417-35.

Stiles M.E. et Holzapfel W.H., (1997).Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.

Stordeur, P. and Mainil J., (2002). Colibacillosis in poultry. *Annales De Médecine Vétérinaire* 146(1): 11-18.

Suskovic J., Kos, B., Goreta, J., and Mato, S., (2001).Role of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in Synbiotic Effect. *Food. technol. biotechnol.*, 39 (3): 227-235.

T

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

Tlaskalová-Hogenová H., Stepánková R., Hudcovic T., Tucková L., Cukrowska B.,Lodinová-Zadniková R., Kozáková H., Rossmann P., Bártová J., Sokol D., Funda D.P., Borovská D., Reháková Z., Sinkora J., Hofman J., Drastich P., Kokesová A., (2004). Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunology Letters.* 93, 97-108. doi: 10.1016/j.imlet.2004.02.005.

Toma M. M., Raipulis, J., Kalnina, I. and Rutkis, R., (2005). Effect of Probiotic Yeast on Genotoxicity. *Food Technol. Biotechnol.*, 43 (3): 301-305.

Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. et Sonomoto K., (2005). Reconstitution and function of Tetragenococcus halophila chaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin.* 99 : 30-37.

Tuomola E.M. et Salminen S.J. Adhesion of some probiotic and dairy Lactobacillus strains to Caco-2 cell cultures. *International Journal of Food Microbiology.* 1998, 41, pp. 45-51.

V

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

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

Vandaële E., (2012) .Le lien entre l'usage d'antibiotiques et l'antibiorésistance est-il établi ?
Le point vétérinaire, n°331 [Internet]. Disponible sur:
<http://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article-rural/n-331/lelien-entre-l-usage-d-antibiotiques-et-l-antibioresistance-est-il-etabli.html>

Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Wang J, Sailer M, Theis S, et al, (2017).Prebiotic inulin-typefructanes induce specific changes in the human gut microbiota. *Gut*.;66(11):1968–74.

Ventura M, van Sinderen D, Fitzgerald GF, Zink R., (2004). Insights into the taxonomy, genetics and physiology of bifidobacteria. *Anton Leeuw*. 86: 205-223.

Veras H. N. H., Rodrigues F. F. G., Colares A. V., Menezes I. R. A., Coutinho H. D. M., Botelho M. A., and Costa J. G. M., (2012). Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippiasidoides* and thymol, *Fitoterapia*, vol. 83, no. 3, pp. 508–512.

Verghese M., Rao D. R., Chawan C. B., Williams L. L., and Shackelford L., (2002).Dietary inulin suppresses azoxymethane-induced aberrant crypt foci and colon tumors at the promotion stage in young Fisher 344 rats, *J Nutr*, vol. 132, no. 9, pp. 2809–2813,

Videnska P. Faldynova M., Juricova H., Babak V., Sisak F., Havlickova H., Rychlik I., (2013). Chicken faecal microbiota and disturbances induced by single or repeated therapy with tetracycline and streptomycin. *BMC Vet. Res.* 13, 9:30. doi: 10.1186/1746-6148-9-30.

Villate D., (2001). Les maladies des volailles. Edition : INRA. S. Beghou. Appareil digestif de la poule: particularités anatomo-physiologiques. *L'appareil digestif*. pp : 27-38.

Voreades N, Kozil A, Weir TL (2014). Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front Microbiol*; 5:494.

W

Wang KY, Li SN, Liu CS, Perng DS, Su YC, Wu DC, Jan CM, Lai CH, Wang TN, Wang WM., (2004a). Effects of ingesting Lactobacillus-and Bifidobacterium-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80(3):737-741.

Wise MG & Siragusa GR., (2006). Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets. *J. Appl. Microbiol.* 0: 1138-1149.

World Health Organization, (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva, Switzerland:232 p.

Y

Yala D, Merad AS, Mohamedi D, Ouar Korich MN., (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Magreb*, N° 91. 5p.

Yildirim Z, and Johnson MG., (1998). Characterization and antimicrobial spectrum of bifidocin B, a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. *J Food Prot.* 61: 47- 51.

Z

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

Zenhom M, Hyder A, de Vrese M, Heller KJ, Roeder T, Schrezenmeir J., (2011). Prebiotic Oligosaccharides Reduce Proinflammatory Cytokines in Intestinal Caco-2 Cells via Activation of PPAR and Peptidoglycan Recognition Protein 3. *J Nutr.*;141(5):971–7.

Annexes

ANNEXE 1 :

Compositions des milieux utilisés :

1) Milieux de pré enrichissement et d'enrichissement :

Eau peptonée tamponnée (EPT)

Peptone	10g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Phosphate disodique anhydre	3,5g/L
Dihydrogénophosphate de potassium	1,5g/L
pH= 7,2 ± 0,2	

Bouillon Nutritif (BN)

Peptone	10g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Extrait de bœuf	10g/L
pH Final 7,3	

Bouillon selenite f broth (SFB)

Digestion pancréatique de caséine	5g/L
Lactose	4g/L
Sélénite de sodium	4g/L
Phosphate de sodium	10g/L

2) Milieux d'isolement :

Gélose Hektoen :

Protéose-peptone	12,0 g/L
Extrait de levure : facteur de croissance	3,0 g/L
Lactose : critère de différenciation	12,0 g/L
Saccharose : critère de différenciation	12,0 g/L
Salicine : critère de différenciation	2,0 g/L
Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H ₂ S	1,5 g/L
Sels biliaires : inhibiteur	9,0 g/L

Fuchsine acide : inhibiteur	0,1 g/L
Bleu de bromothymol : indicateur de Ph	0,065 g/L
Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique	5,0 g/L
Thiosulfate de sodium : précurseur d'H ₂ S	5,0 g /L
Agar	14,0 g/L
pH = 7,6	

Gélose Salmonella-Shigella (SS) :

Peptone	5g/L
Extrait de viande de bœuf	5g/L
Sels biliaires	4,2g/L
Citrate de sodium	10g/L
Thiosulfate de sodium	8,5g/L
Citrate de fer	2g/L
Lactose	10g/L
Rouge neuter	25mg
Vert brillant	0,3mg
Agar	12g/L
pH final	7,3 ± 0,2 à 25°C

3) Milieu pour antibiogramme :

Mueller Hinton :

Extrait de viande	3g
Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	16g
Eau distillée	1L
pH = 7,3	

4) Milieux pour le dénombrement

○ **Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL)**

Peptone	7g/L
Extrait de levure	3g/L

Lactose	10g/L
Chlorure de sodium	5g/L
Mélange sel biliaire	1,5g/L
Cristal violet	0,002g/L
Rouge neutre	0,03g/L
Agar	15g /L
pH 7,4	

○ **Gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBG)**

Extrait de levure	3g/L
Peptone	7g/L
Chlorure de sodium	5g /L
Sels biliaires	1,5g/L
Glucose	10g/L
Rouge neutre	0,03g/L
Cristal violet	0,002g/L
Agar	12g/L
pH 7,4 ± 0,2	

○ **Milieu plate Count Agar (PCA)**

Tryptone	6g/L
Extrait de levure	2,5g/L
Glucose	1 g/L
Agar	15g/L
pH 7	

ANNEXE 2 :

Tableau de lecture Api 20 E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.223	B-galactosidase (Ortho NitroPhenil-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1.9	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	1.9	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation du citrate	Jaune	Bleu-vert/Bleu (3)
H ₂ S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H ₂ S	Vert pâle/jaune	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	0.76	Uréase	Incolore/grisâtre	Rouge/orangé (2)
TDA	Tryptophane	0.38	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat jaune / Marron-rougeâtre	
IND	Tryptophane	0.19	Production d'indole	James/ immédiat Incolore / vert pâle/ jaune / Rose	
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétone (Voges Proskauer)	VP1+VP2/ 10 min Incolore/rose pâle / Rose / rouge (5)	
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Gélatinase (gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation/oxydation (Glucose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-mannitol	1.9	Fermentation/oxydation (Mannitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1.9	Fermentation/oxydation (Inositol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation/oxydation (Sorbitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation/oxydation (Rhamnose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation/oxydation (Saccharose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1.9	Fermentation/oxydation (Melibiose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0.57	Fermentation/oxydation (Amygdaline) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation/oxydation (Arabinose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre		Cytochrome-oxydase	Ox/ 5-10 mn Incolore / Anneau violet	

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (3) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
- (4) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (5) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (6) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.