

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel

Faculté des sciences

Département de Biologie

MB 12 / 04

## Mémoire de fin d'étude

23  
85

En Vue De L'obtention d'un diplôme d'étude Supérieur en biologie  
D.E.S

Option : Microbiologie

### Thème

Effet d'un probiotique Lactobacillus  
plantarum BJ 434 sur la flore endogène  
du poulet de chair

Promoteur :

M<sup>ele</sup> ADOUI Mounira

Président :

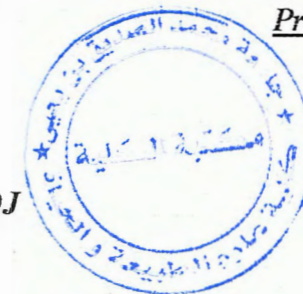
M<sup>elle</sup> SEGUENI. N

Examineur :

M. BOUDJERDA .DJ

Présenté par :

- ❖ MALLEM Wafa
- ❖ DIFFELLAH Amel
- ❖ MAZAR Meriem



Promotion 2004

## LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titres	Page
Tableau 1	Critères différentiels des trois groupes de <i>Lactobacillus</i>	04
Tableau 2	Quelques propriétés biochimiques de <i>Lactobacillus plantarum</i> BJ434	05
Tableau 3	Exemple de souche de probiotique sous forme d'aliment de complément alimentaire ou de médicament.	09
Tableau 4	Taux d'utilisation des matières premières pour la préparation d'aliment de croissance et finition (CODAC)	22
Tableau 5	La coloration de GRAM des différentes souches testées	40
Tableau 6	Aspect des colonies de chaque souche sur milieu sélectif	40
Tableau 7	Les profils biochimiques des souches	43
Tableau 8	Interaction entre les souches et <i>L.B plantarum</i> BJ434	45
Tableau 9	Interactions entre <i>Lb plantarum</i> BJ434 et les souches étudiées à l'état inverse.	46
Tableau 10	Evolution des nombre de la FTAM	48
Tableau 11	Evolution du nombre de Coliforme totaux	49
Tableau 12	Evolution du nombre de Coliforme thermotolérants	50
Tableau 13	Evolution du nombre du <i>L.B plantarum</i> BJ434	52
Tableau 14	Coloration de GRAM du <i>L.B plantarum</i> BJ434	54
Tableau 15	Evolution du nombre de <i>Salmonella</i>	54
Tableau 16	Evolution du nombre de <i>Clostridium</i>	55
Tableau 17	Evolution du nombre de <i>Streptocoques sp</i>	55
Tableau 18	Evolution du nombre de <i>Staphylococcus sp</i>	56
Tableau 19	Nombre de lacobacilles sur M17 et MRS après l'abattage	57
Tableau 20	Coloration de GRAM du <i>L.B plantarum</i> BJ434 après l'abattage	58

## LISTE DES FIGURES

Figures	Titres	Page
Figure 1	Schéma de l'appareil digestif de la poule.	16
Figure 2	La méthode de préparation de <i>Lb plantarum</i> p434 .	31
Figure 3	Schéma récapitulatif de la méthode de dilution et recherche des différentes flore pour chaque lot expérimentale	34
Figure 4	Schéma récapitulatif de la recherche de <i>salmonella</i> pour chaque lot expérimental	36
Figure 5	Protocole de l'abattage jusqu'au le dénombrement des bactéries lactiques a partir de tube digestif d'une poule de lot probiotique	38
Figure 6	Identification biochimique d' <i>Ecoli</i>	41
Figure 7	Zone d'inhibition exercer par <i>lactobacillus plantarum</i> sur les souches étudiées	47
Figure 8	L'évolution du nombre des CT dans la MF chez les poulets des deux lots.	49
Figure 9	Evolution du nombre des CTT dans la MF chez les poulets des deux lots.	50
Figure 10	Evolution de <i>Lb p434</i> dans la MF.	52

## SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	01
<b>1<sup>ère</sup> Partie : Etude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Bactéries lactiques</b> .....	02
I-1- Définition.....	02
I-2-Propriétés générales de <i>Lactobacillus</i> .....	02
I-2-1 Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	03
I.2.1.1 <i>L.b plantarum</i> .....	05
I.2.2 Isolements les <i>lactobacillus</i> .....	06
I.2.3. Identification.....	06
<b>Chapitre II Les probiotiques</b> .....	07
II.1.Définition .....	07
II.2.Composition et sélection.....	07
II.3. Mécanismes d'action des probiotiques .....	09
II.3.1 Effet nutritionnel.....	10
a- Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire .....	10
b-Neutralisation des produits toxiques .....	11
II-3.2. Effet sanitaire.....	11
a- Inhibition des bactéries indésirables... ..	11
b-Stimulation de l'immunité .....	12
c-Activité anti tumorale.....	13
d- Cholestérolémie.....	13
<b>Chapitre III : Utilisation des pro biotiques en aviculture</b> .....	14
III-1-Importance de la viande du poulet dans la nutrition humaine .....	14
III-2.Anatomie de l'appareil digestif du poulet. ....	15
a/-Appareil digestif.....	15
III-3.La microflore intestinale des volailles.....	16

III-4.Le rôle de la micro flore.....	18
III-5.Utilisation des pro biotique en aviculture .....	19
III-5.1.Efficacité sanitaire des probiotique .....	19
III-5.2.Efficacité Zootechnique .....	20
<b>2<sup>eme</sup>Partie : Partie Pratique</b>	
II. Matériel et Méthodes .....	21
II.1.Matériel .....	21
II.1.1.Matériel biologique .....	21
a) Les souches bactériennes .....	21
b) Poussins.....	21
c) pro biotique.....	21
II.1.2 : Les produits.....	22
a) Aliment.....	22
b) Milieux de culture.....	23
c) Produits chimiques et réactifs.....	23
II.1.3.Autre Matériel.....	24
a)Matériels utilisés dans l'élevage .....	24
b)Matériels du laboratoire.....	24
II.2.Méthode.....	24
II.2.1 Etude in Vitro.....	24
II.2.1.1.ReVéivification et identification des souches bactériennes ...	24
a-Re Véivification des bactéries .....	24
b-Identification des bactéries .....	24
b-1)Examen microscopique.....	24
b-2)Profil biochimique .....	25
II-2.1.2 :Etude des interactions microbiennes .....	28
a) Effet <i>Lb plantarum</i> sur les bactéries étudiées .....	28

b)Effet des bactéries sur <i>Lb plantarum</i> .....	28
II.2.2 :Etude in VIVO.....	29
II.2.2.1 :Méthode d'élevage.....	29
II.2.2.2:Préparation et utilisation de probiotique.....	30
II.2.2.3 :Evaluation de la flore endogène.....	32
a)Echantillonnage.....	32
b)Dilutions Décimales.....	32
c)Démembrement de la FTAM.....	32
d)Dénombrement de <i>Lb plantarum</i> .....	32
e)Dénombrement des entérobactéries .....	33
f)Dénombrement de <i>Staphylococcus Sp</i> .....	33
g)La recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux.....	33
h)La recherche de <i>Salmonella</i> .....	35
i)Dénombrement de <i>Clostridium</i> .....	37
II.2.3 :L'abattage des animaux.....	37
III .Résultats et discussion .....	39
III.1 :Identification des souches étudiées.....	39
III.1.1 :Caractères morphologiques et cultureux.....	39
III.2.Identification biochimique.....	43
III.3. Etude des interactions in Vitro.....	44
III3.1 :Effet de <i>Lb plantarum BJ 434</i> sur la croissance des bactéries étudiées.....	44
III.3.2 :Effet des souches étudiées sur la croissance de <i>Lactobacillus plantarum BJ 434</i> .....	46
III.4.Etude des interactions in VIVO.....	48
III.4.1 .Evolution du nombre de la FTAM.....	48
III.4.2 .Evolution du nombre des coliformes totaux.....	49
III.4.3:Evolution du nombre des coliformes thermotolerantes.....	50
III.4.4 :Evolution du nombre de <i>Lb p BJ 434</i> .....	51
III.4.5 :Evolution du nombre de <i>Salmonella</i> .....	54
III.4.6 :Evolution du nombre de <i>clostridium</i> .....	55
III.4.7 :Evolution du nombre de <i>Streptococcus Sp</i> .....	56

<b>III.4.8</b> :Evolution du nombre de <i>Staphylococcus Sp</i> .....	56
<b>III.5</b> :Evolution du nombre de <i>Lb p BJ 434</i> après l'abattage.....	57
<b>Conclusion</b> .....	59
<b>Références bibliographiques</b> .....	61
<b>Annexes</b>	

# Introduction



Pour la filière volaille, la productivité est le mot clé à tous échelons, au niveau de l'élevage, de transformation, mais aussi de la vente. L'objectif est d'obtenir la croissance la plus rapide, par un coût minimale.

L'activité de recherche en l'alimentation des volailles est donc tournée vers la productivité.

Les innovations importantes ne sont mises en œuvres que si elles se révèlent être des solutions de moindre coût. Ainsi en est il les probiotiques, dernières révolution de l'aliment des volailles.

Les probiotiques sont des additifs alimentaires composés de microorganismes vivants (*Bifidobacterium*, *Lactobacillu*, *Streptococcus*, *Bacillus*), qui agissent de façon bénéfique sur l'organisme hôte.

L'emploi commercial de ces produits probiotiques en élevage industriel des volailles est relativement nouveau. Ils seraient susceptibles d'améliorer les performances zootechniques et l'hygiène digestive de l'animal. Par ailleurs leur propriété de biorégulation ouvre de large perspectives en particulier dans le remplacement des antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance.

En effet, le plus grand intérêt des produits probiotiques résidera bientôt plus dans leur efficacité sanitaire que dans leur efficacité zootechnique se qui permettra d'améliorer l'état globale de santé des animaux et la prévention des épidémies ayant des conséquences drastiques en élevage.

Pour cette raison on a vu intéressant de mener cette étude pour évaluer l'intérêt d'une éventuelle utilisation d'une souche de *Lb plantarum* BJ434 dans l'alimentation du poulet de chair.

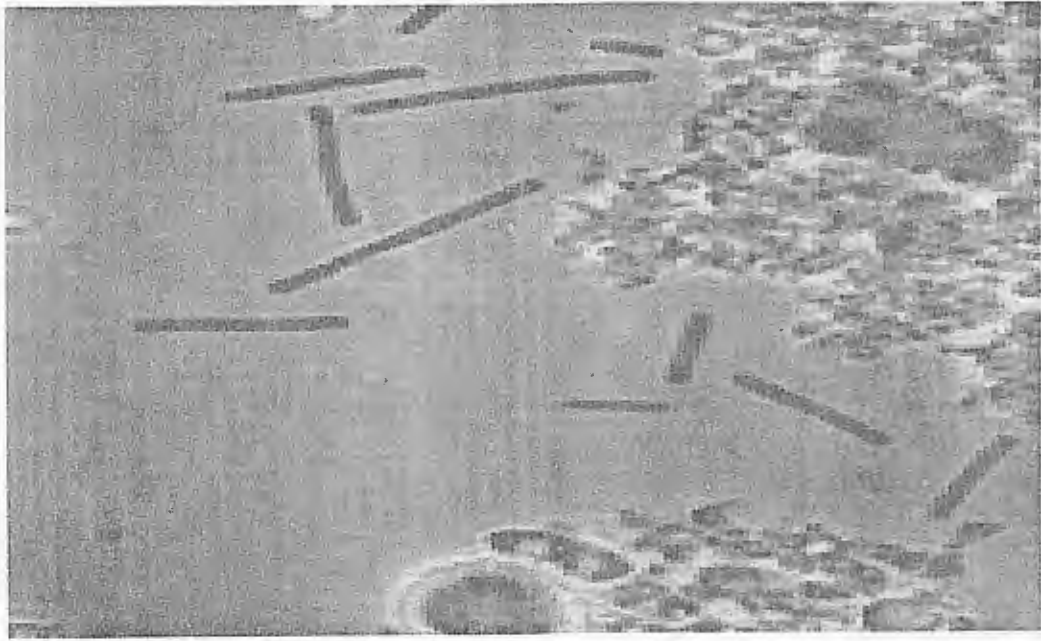
Pour ce la on a divisé notre travail en deux grandes parties:

- 1- Etude des interactions *in vitro* entre *Lb plantarum* BJ 434 et des souches indésirables: *Salmonella*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*.....
- 2- Etude des interaction *in vivo* entre *Lb plantrum* BJ 434 et la flore endogène du poulet.

Partie

Bibliographique

# Chapitre I



*Les bactéries lactiques*

### I. 1. Définition :

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique. Elle rassemble en effet un certain nombre de genres de bactéries à GRAM<sup>+</sup> possédant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes [19].

La principale fonction métabolique d'une bactérie lactique est l'excrétion de l'acide lactique [1].

Les bactéries lactiques sont des bacilles (Lactobacillaceae) et des coques (Streptococcaceae).

D'après ORLA – JENSEN, sept genres principaux constituent le groupe des bactéries lactiques.

- *Lactobacillus*, bacilles homofermentaires et hétérofermentaires.

- *Carnobactérium*

- *Enterococcus*, cocci homofementaires.

- *Lactococcus*, cocci homofermentaires.

- *Streptococcus*, cocci homofermentaires.

- *Pediococcus*, cocci homofementaires .

- *Leuconostoc*, cocci hétérofermentaires. [2].[ 8].



### Remarque :

Seuls les *Lactobacillus*, les *Enterococcus*, les *Streptococcus* et éventuellement les *Lactococcus* sont utilisés comme probiotiques en alimentation animale et humaine [8].

### I.2. Propriétés générales des lactobacilles :

Il s'agit de bacilles, GRAM + , asporulées, immobiles (sauf *Lb. Agilis*). Ils sont cytochrome oxydase et catalase négatives, microaérophiles ou anaérobies. Ils ont un métabolisme fermentaire produisant l'acide lactique. Certaines espèces sont homolactiques, d'autres sont hétérolactiques produisant des acides volatils, de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> à côté de l'acide lactique.

Les lactobacilles exigent pour leur développement des milieux bien adaptés, riches en acides aminés, vitamines et acides gras : ils sont acidophiles. Le CO<sub>2</sub> à la concentration 5-10 % stimule souvent leur croissance. Ils sont peu protéolytiques et peu lipolytiques. [ 9]

Leur GC% varie de 32 à 53 %. La croissance des lactobacilles est bonne dans un milieu à pH 4,5-6,4 mais s'arrête à pH 4,0-3,6. [ 8]

### **I.2.1 Le genre *Lactobacillus* :**

*Lactobacillus* est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*. Il se subdivise en trois groupes :

#### **Groupe I Anciennement appelé *Thermobactérium*:**

Il comprend les lactobacilles homofermentaires obligatoire (ni les pentoses ni le gluconate ne sont fermentés). Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces.

Ces bactéries possèdent une fructose 1.6 diphosphate aldolase et une phosphofructokinase. Elles se développent à 45°C mais pas à 15°C.

Un grand nombre a été isolé chez l'homme et les animaux (tractus digestif , organes génitaux) et participent à l'équilibre de la microflore de l'organisme.

#### **Groupe II anciennement appelé *Streptobacterium* :**

Ce sont les espèces hétérofermentaires facultatifs. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces majoritairement mésophiles se développent à 15°C.

Ils sont isolés dans les fourrages, les produits laitiers et les produits carnés.

#### **Groupe III anciennement appelé *Betabactérium* :**

Il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoire c'est à dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes.

Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés certains espèces se développent dans le tube digestif de l'homme et participent à l'équilibre de la flore intestinale. [19], [8] , [13] ,[3]

Tableau 1 :Critères différentiels des trois groupes de *Lactobacillus* [3],[8]

	Themobactérium GI	Stréptobacterium GII	Betabacterium GIII
ADH	-	±	+
Glucose (gaz)	-	-	+
Glucosides	±	+	-
Gluconate (gaz)	-	+	+
Aldolase	+	+	-
Pentoses	-	±	±
Thiamine	-	-	+
Acide lactique	DL ou L	DI ou L	DL
G+ C%	34.7 – 50.8	33 – 46.4	35 – 53.4

+ : positif

- :negatif

**I.2.1.1. Lactobacillus plantarum :**

Elle est hétérofermentaire facultative, incapable de cultiver à 45°C, mais capable de le faire à 15°C. Fermente le glucose, le fructose et le mannose sans dégagement de CO<sub>2</sub>. Elle est lactose<sup>+</sup>, saccharose<sup>+</sup>, gluconate<sup>+</sup> et fermente toujours le mélbiose et le raffinose. Elle libère l'acide lactique DL et possède l'acide diaminopimélique. [1], [8], [3], [13],[19].

**Tableau 2 : Quelques propriétés biochimiques de *Lactobacillus plantarum* BJ434 [13].**

Caractères	<i>Lactobacillus plantarum</i> BJ434
Croissances à 4°C	-
Peptidoglycane	mésos - DAP
Acide lactique	DL
Nitrate réductase	±
Fermentation du :	
*ribose	+
*arabinose	±
*mannitol	+
*sorbitol	+
*raffinose	±
*mélbiose	+
*saccharose	+
*maltose	+
*lactose	+
catalase	--
ADH	±

+ : réaction positive.

- : réaction négative

**I.2. 2. Isolement des *Lactobacillus* :**

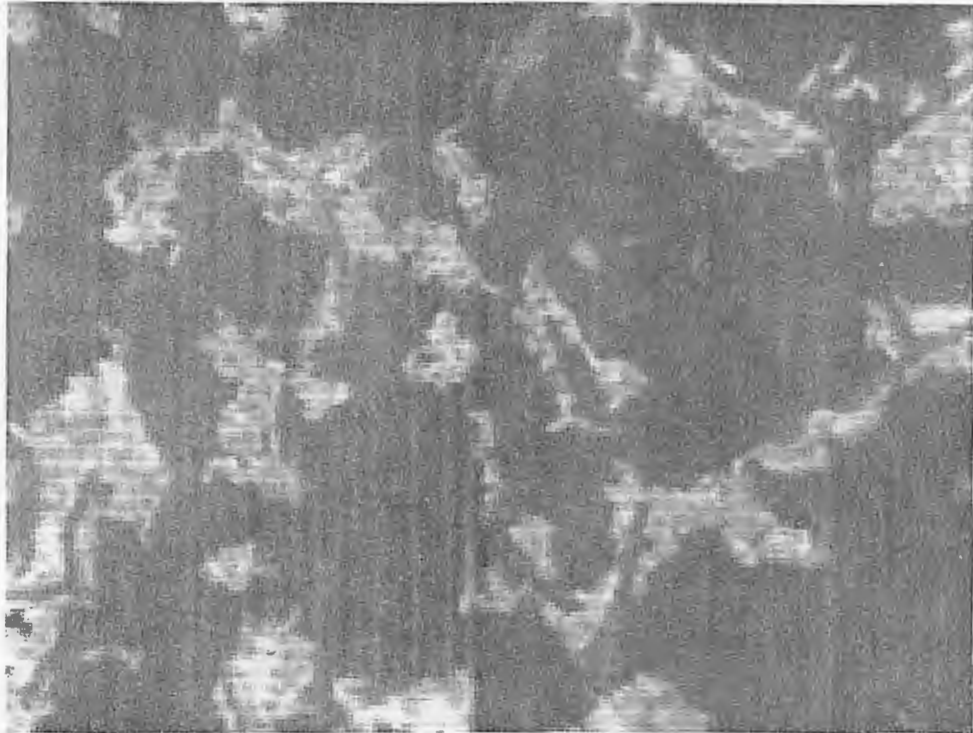
L'isolement est difficile et utilise un milieu particulier le milieu **MRS** en anaérobiose.

**I. 2. 3. Identification :**

La galerie API20A permet d'identifier des *Lactobacillus* anaérobies stricts.[19].



# Chapitre II



Vue au microscope d'une mixture de deux cultures pures de *Lactobacillus intestinalis*  
(éléments verts allongés) et *Bifidobacterium longum* ('grains' rosâtres)

## *Les probiotiques*

## **II. 1. Définition :**

Au début du siècle, METCHNIKOFF fut le premier à promouvoir l'idée que la flore bactérienne des laits fermentés pouvait exercer un effet bénéfique sur la santé de ceux qui en consommaient régulièrement [3].

Le terme de probiotique dérive de deux mots grecs « pro » et « bios » et signifie littéralement en faveur de la vie par opposition au terme antibiotique signifiant contre la vie. [13]

Les définitions du terme probiotique ont évolué avec le temps et la réflexion des chercheurs, des industriels et des spécialistes. LILLY et STILLWELL (1965) qui furent apparemment les premiers en 1965 à utiliser le terme et à choisir des « **facteurs promoteurs de croissances produits par les microorganismes** ». PARCKER en 1974 choisit d'élargir la définition à des « **organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore** ». Cette définition trop vaste englobe les cultures microbiennes mais aussi les métabolites produits par les microorganismes et par conséquent les préparations d'antibiotiques.

C'est pourquoi FULLER en 1989, redéfinit les probiotiques comme étant : « **des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale** » [13].

En effet beaucoup de définition des probiotiques ont été données mais elles sont finalement très proches les unes des autres. Celle qui est généralement retenue à l'heure actuelle a été proposée par la FAO en 2002 : « **les probiotiques sont des micro organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte** » [5].

## **II. 2. Composition et sélection :**

Les probiotiques reconnus actuellement appartiennent pour la plupart à la famille très répandue des bactéries lactiques que l'on trouve naturellement sur de nombreux produits alimentaires : les produits laitiers mais aussi sur la viande, le saucisson, les légumes, le poissons, etc.....

Toutes les bactéries lactiques n'ont pas d'effets probiotique. Parmi les vingtaines de critères proposés pour caractériser ces microorganismes particuliers reconnus comme ayant effet probiotique, cinq font l'unanimité :

- 1- l'origine animale.
- 2- le caractère non pathogène.
- 3- la tolérance à l'acide et à la bile : ils doivent survivent lors de leur passage dans l'appareil digestif.
- 4- la résistance aux procédés technologiques et aux temps de conservation.
- 5- des effets bénéfiques pour la santé avéré. [15]

Ils s'agit de bactéries ou de levures, présentes ou non dans la microflore intestinale résidente. Les genres les plus utilisés ou étudiés sont: *Bifidobactérium*, *Lactobacillus* et *Saccharomyces* . Mais aussi *Streptococcus*, *Propionibactérium*, *Enterococcus* et *Bacillus*.

Au sein d'un même genre il faut distinguer les espèces et les souches qui diffèrent selon les industriels et dont les propriétés peuvent être différentes. Des exemples sont fournis sur le tableau 3. [14]

En pratique, il existe plusieurs façons d'intégrer un probiotique à un produit : seuls ou associés à d'autres microorganismes, sous forme d'aliment, de médicaments, d'additif ou de complément alimentaire.

Tableau 3 : Exemples de souches de probiotiques sous forme d'aliments, de compléments alimentaires ou de médicaments. Selon Philippe Marteau (2004)

<i>Bifidobacterium</i>	<i>B.lactis Bb12</i>
	<i>B. animalis DN 173 010</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L.rhamnosus souche GG</i>
	<i>L. johnsonii La1</i>
	<i>L. casei DN 114 001</i>
	<i>L. casei shirota</i>
	<i>L. plantarum 229</i>
	<i>L. plantarum 229v</i>
	<i>L. reuteri</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium SF 568</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S.boulardii</i>

### II. 3. Mécanismes d'action des probiotiques :

Il faut insister sur le fait que le facteur majeur qui détermine l'efficacité d'un probiotique est sa capacité à survivre lors du transit gastro-intestinal et de ce fait à coloniser l'intestin.[ 18]

Les mécanismes potentiellement impliqués dans l'effet bénéfique de ces probiotiques sont nombreux, faisant intervenir des mécanismes nutritionnels, et sanitaires.

### **II.3.1.Effet nutritionnel :**

#### **a. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire :**

Les probiotiques jouent un rôle essentiel dans la physiologie nutritionnelle, en facilitant la digestion et l'absorption des différents nutriments [8]

La production d'enzymes par les souches probiotiques serait une des possibilités pour favoriser la digestion de la ration alimentaire.

Ainsi certaines bactéries probiotiques, notamment les lactobacilles excrètent la  **$\beta$ -galactosidase** souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte et facilitent donc la digestion du lactose [13]

Les bactéries probiotiques contribueraient également à la digestion des glucides plus complexes que le lactose. C'est le cas de certaines souches probiotiques glucanolytiques : lorsque les animaux ont une alimentation riche en avoine et en orge, elles permettent de dégrader le  $\beta$ -D. glucane. Celui-ci n'est pas métabolisé par les enzymes de l'hôte et il interfère avec la digestion de l'amidon. Chez le poulet, l'utilisation de souches de *Lactobacillus* permet d'augmenter la vitesse d'amylolyse et la production d'acide lactique.

Les probiotiques pourraient améliorer l'utilisation de la ration alimentaire de manière indirecte en agissant sur la microflore intestinale de l'hôte. Elles stimuleraient l'activité enzymatique des bactéries endogènes permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments.[8]

La digestibilité de la ration alimentaire pourrait être également augmentée par la pré-digestion des facteurs antinutritionnels (par exemple l'acide phytique) en substrats assimilables par l'hôte.

Les souches probiotiques permettraient aussi d'améliorer l'assimilation des acides aminés essentiels pour l'hôte et la production des vitamines.

Les laits fermentés apportent une amélioration du transit intestinal en général et plus particulièrement chez les personnes dont le transit est ralenti [5]

**b. Neutralisation de produits toxiques :**

Les probiotiques provoqueraient une atténuation du catabolisme intradigestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption de substances toxiques telles que l'ammoniac, les amines et les indoles et diminuer la biotransformation des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques.

Les probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser *in situ* certaines toxines bactériennes [8].

**II. 3.2. Effet sanitaire :**

**a. Inhibition des Bactéries indésirables :**

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la répression du développement de germes pathogènes par les probiotiques.

La production d'acides organiques à partir des glucides de la ration alimentaire tels que l'acide lactique ou l'acide acétique (abaissement du pH), inhibe le développement *Salmonella* et des *Escherichia coli*. De plus, l'acidification favorise le péristaltisme intestinal.

La production du peroxyde d'hydrogène inhibe la croissance des *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas sp*, *Salmonella* [8],[14].

La production de substances antimicrobiennes telles que les bactériocines (nisine, lactacine, acidocine, plantaricine). Ce sont de nature protéique bloquant la croissance des bactéries ou les détruisant. [15],[16]

Certaines souches possèdent la capacité de déconjuguer les sels biliaires : les formes déconjugés ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement que les formes conjuguées [8] .

Les souches probiotiques pourraient agir en inhibant l'implantation des germes pathogènes par compétition pour la colonisation. ; l'adhésion des bactéries

probiotiques aux cellules intestinales permettrait une colonisation rapide et dirigée du tube digestif.

D'après les travaux de CHAUVIERE, la capacité des différentes *lactobacillus* à s'adhérer à des cellules épithéliales et à inhiber l'adhérence des germes pathogènes tels que : *E.coli* et *Salmonella typhimurium* serait probablement liée à un encombrement stérique des récepteurs enterocytaires des pathogènes .

L'implantation des germes indésirables pourrait être empêchée par une inhibition compétitive des souches probiotiques avec les souches pathogènes pour les aliments.[8]

### **b. Stimulation de l'immunité :**

Les bactéries lactiques auraient une action stimulante sur le système immunitaire en agissant sur les cellules impliquées soit dans l'immunité naturelle soit dans l'immunité spécifique. [8],[15].

#### **♣ Stimulation de l'immunité non spécifique :**

Les probiotiques stimuleraient l'activation des macrophages.

Actuellement les mécanismes par lesquels les bactéries lactiques activent les macrophages sont encore inconnus.

#### **♣ Stimulation de l'immunité spécifique :**

Le système immunitaire spécifique comprend en fait deux systèmes :

-L'un agit par l'intermédiaire des anticorps sécrétés par les lymphocytes B (**immunité humorale**) .

-L'autre agit par l'intermédiaire direct des lymphocytes T (**immunité à médiation cellulaire**).

Les deux systèmes communiquent entre eux par l'intermédiaire de substances chimiques telles que les interleukines.

L'augmentation de la réponse immunitaire spécifique se traduit par une activation du taux d'interleukines et des anticorps circulants (IgM et IgG).

PERDIGON et al, ont mis en évidence une activation du système immunitaire spécifique en réponse contre l'infection par *Salmonella typhimurium* de souris

traitées avec des laits fermentés contenant des souches de *Lb. Casei* et *Lb acidophilus*.

**\*Stimulation du système immunitaire sécrétoire :**

La présence des bactéries probiotiques favoriserait la production d'anticorps, notamment des IgA sécrétoires dans la lumière intestinale. Ces IgA ont un rôle clé dans la lutte contre les bactéries et levures invasives que dans la tolérance immunitaire vis à vis de la flore dominante. [16],[15].

**c. Activité anti-tumorale :**

Plusieurs études ont montré que certains probiotiques pouvaient diminuer l'activité d'enzymes, de mutagènes ou des acides biliaires secondaires dans les selles, qui pourraient être impliqués dans la cancérogenèse colique.[14]

**d. Cholestérolémie :**

Des études *in vitro* ont montré que la souche *Lactobacillus acidophilus* pouvait assimiler le cholestérol présent dans le milieu de culture . Ceci laisse supposer que la souche bactérienne utilise le cholestérol présent dans la lumière intestinale réduisant ainsi son absorption dans le système sanguin [15].

D'autres effets bénéfiques ont pu être attribués aux probiotiques ils peuvent avoir un effet positif vis à vis de la diarrhée des voyageurs, la diarrhée des nourrissons et des allergies alimentaires.[18]



# *Chapitre III*



*Utilisation des probiotiques en aviculture*

### III.1. Importance de la viande du poulet dans la nutrition humaine

Le poulet s'avère une source de protéines très utilisée parce qu'il présente de nombreux avantages tel que :

- animaux à élevage rapide et facile par rapport à celui des bovins.
- sur le plan zootechnique, c'est un animal à croissance rapide : de 50 g en un jour d'âge, il passe à 6 kg en 14 à 16 semaines.
- sur le plan nutritionnel, sa viande est considérée comme maigre avec un taux de 2 à 5% de lipides et un taux de cholestérol de l'ordre de 0.02 mg/100g
- qualité ou goût de la viande appréciable.

La viande des volailles est une source de Niacine qui aide à garder une peau saine, à assimiler les autres aliments et à faciliter la digestion.

Elle contient la pyridoxine (vit B<sub>6</sub>) nécessaire au métabolisme des protéines et l'acide pantothénique (vit B<sub>5</sub>) important dans la libération de l'énergie.

Une source appréciable de fer et zinc et surtout phosphore important dans la formation et la calcification des oses et des dents.

Chaque 100g de la partie comestible muscle du poulet donne 147 K calorie. : [20].

[11].[7]

### III. 2. Anatomie de l'appareil digestif du poulet :

#### L'appareil digestif :

L'appareil digestif qui est relativement court mais très adapté pour transformer des aliments concentrés en éléments nutritifs.[12] .

Il est constitué par un ensemble d'organes qui assurent une dégradation des aliments ingérés afin de permettre l'absorption des nutriments par la paroi du tube digestif. Ce dernier renferme plusieurs organes qui sont. [2] .

- **Le bec** : rigide et robuste.
- **La bouche** : ou cavité bucco-pharyngée dépourvue de dents chez tous les oiseaux
- **La langue** : est recouverte d'un épithélium corné.
- **L'œsophage** : conduit long présente à la base de l'encolure un diverticule (Jabot).
- **L'estomac** : présente une partie glandulaire : le proventricule et une partie musculaire : **le Gésier**.
- **L'intestin** : possède 2 longs cæcums.

Le tube digestif se termine par **le Cloaque** (cavité commune aux différents appareils : digestif, urinaire et génital).

- **La bourse de Fabricius** (organe lymphoïde) : qui s'abouche dans le cloaque. [4]

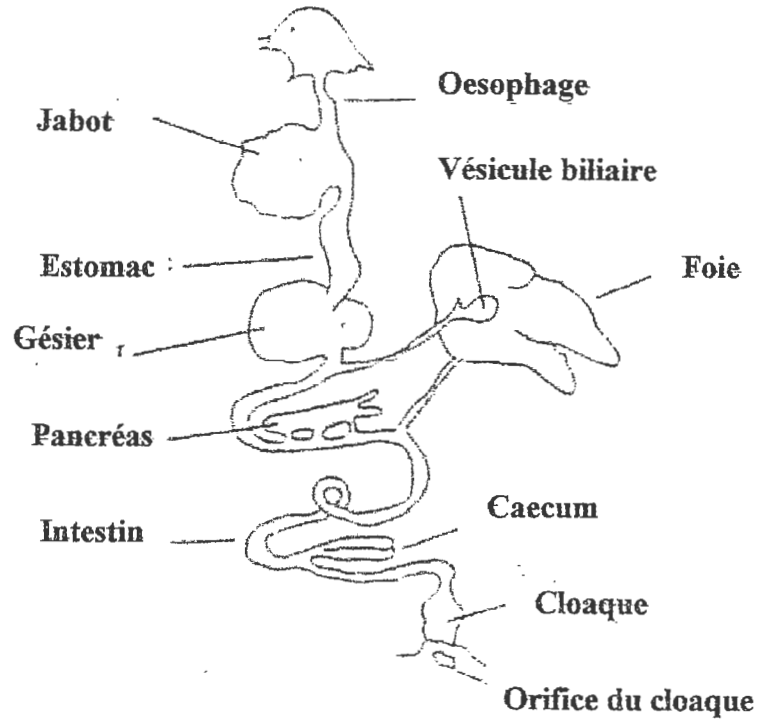


Figure 1: Schéma de l'appareil digestif de la poule. [8]

### III.3. La microflore intestinale des volailles :

La microflore des volailles est composée de nombreux micro-organismes différents où entre lesquels existent souvent des interactions complexes [8].

Les microorganismes majoritaires de la flore intestinale des volailles sont des *Lactobacillus* : *Lb.salivarius*, *Lb. acidophilus* et *Lb. fermentum* .Ils sont présents tout le long du tractus digestif ( jabot, gésier, intestin grêle et caecum) y compris dans les fèces. Le groupe sous dominant est constitué de souche d'*Enterococcus* : *Ec. faecalis subsp. liquefaciens*, *Ec. faecalis subsp.zymogenes*, *Ec. faecium*, *Ec.avium* et *Ec. gallinarum*.

La colonisation du tractus digestif des oiseaux débute quelques heures après l'éclosion des poussins. Ce sont les *Enterococcus* et les entérobactéries qui se développent tout d'abord dans le caecum avant d'envahir la totalité du tractus digestif 24h après la naissance. Les *Lactobacillus* s'établissent seulement trois jours plus tard et deviennent largement majoritaires; le nombre d'*Enterococcus* et

d'entérobactéries diminue dans les différentes parties du tube digestif excepté dans le caecum.

Dans le Jabot, le Gésier, le Duodénum et l'intestin grêle il suffit de deux semaines pour que la flore normale soit installée. Par contre l'installation d'une flore stable au niveau du caecum demande plus de temps.

Le jabot des volailles contient essentiellement des *Lactobacillus* : ceux-ci produisent de grandes quantités d'acides organiques principalement acide lactique et l'acide acétique. De ce fait, le pH du Jabot très bas (de l'ordre du 4-5) empêche le développement des micro-organismes non acidotolérants tel que les *Salmonella*, les *Escherichia coli*.

Les travaux de FULLER et TURVEY ont montré que de nombreux *Lactobacillus* adhèrent aux cellules épithéliales du jabot. L'établissement de ses souches de *Lactobacillus* commence dès le jour de l'éclosion des œufs, se poursuit tout au long de la vie du poulet et n'est pas affecté par des variations importantes du régime alimentaire; ceci suggère une implantation stable des bactéries [8].

Des souches *Escherichia coli* sont présentes dans le jabot mais en tout petit nombre, maintenues sûrement par l'ingestion quotidienne des fèces. Sont présentes également en nombre restreint, des souches d'*Enterococcus sp.*

Dans le gésier le pH est très bas (entre 1-2) et la survie des microorganismes dépend essentiellement de leur capacité à résister à l'acidité [8].

La multiplication microbienne dans le duodénum est très faible à cause du transit important des nutriments (moins de  $10^8$  germes / g de contenu). Cependant, à ce niveau du tube digestif peuvent se développer des *Enterococcus* et *Clostridium perfringens*.

Dans le duodénum et l'iléon sont surtout présents des germes aéro-anaérobies facultatifs : *E.coli*, *Lactobacillus* (*Lb.acidophilus* et *Lb.reuteri* principalement), *Enterococcus*.

Le caecum est l'organe contenant la plus grande quantité de microorganismes ( $10^{10}$  / g de contenu). La microflore y est très complexe. La plupart des microorganismes sont des anaérobies stricts : les *Peptostreptococcus*, *Bacteroides* (30%), *Eubacterium* (20%), *Clostridium* (10%), *Bifidobacterium* (10%).

Le reste de la microflore est composée de bactéries anaérobies facultatives les *E.coli*, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella*, sont fréquemment présente mais en petit nombre[8][5].

#### **III.4.Rôle de la microflore :**

La microflore chez les volailles jouerait un rôle nutritionnel non négligeable notamment au niveau du caecum. Il semblerait que celui-ci soit le site :

- D'une dégradation microbienne ;
- D'une activité protéolytique bactérienne ;
- D'une synthèse des vitamines par les microorganismes ;
- D'une absorption de l'azote non protéique ;
- D'absorption de l'eau.

La présence des bactéries uréolytiques dans le caecum des oiseaux suppose que le rôle fondamental de la microflore caecale, d'un point de vue nutritionnel, consiste à dégrader l'acide urique avec réutilisation des produits obtenus. Il y aurait également réabsorption de l'eau et de divers composés (vitamines, acides aminés) synthétisés par les microorganismes.

Au niveau du jabot certaines souches de *Lactobacillus* auraient une activité amylolytique. et joueraient un rôle dans la rétention protéique et énergétique en fonction du taux protéique de la ration et de la nature des glucides.

Outre son rôle nutritionnel, la microflore normale des oiseaux est très importante pour la résistance à la colonisation des bactéries pathogènes **effet barrière**[14].

Les sites principaux sont le Jabot, qui est le premier organe concerné par la colonisation bactérienne après l'ingestion des microorganismes, et le Caecum, le

premier site de colonisation pour de nombreuses bactéries pathogènes incluant les *Salmonella* et les *Campylobacter*.

Plusieurs auteurs ont démontrés que la flore lactique (*Lactobacillus* essentiellement) du Jabot est primordiale pour le maintien d'une balance microbienne bénéfique[10].

### **III. 5. Utilisation des probiotiques en aviculture :**

Les probiotiques, en aviculture, sont essentiellement utilisés dans le but d'apporter des microorganismes bénéfiques absents du tractus digestif pour que les poulets puissent bénéficier des effets favorables de ces microorganismes.

Il existe deux grandes catégories de préparations probiotiques :

1. celle ayant une action efficace au niveau du Jabot et de la partie antérieure de l'intestin grêle ;
2. celles qui ont une action principalement dirigée au niveau du caecum.

Ces préparations sont à base de *Lactobacillus*. Ceci s'explique par le fait :

- que ce sont des bactéries présentes dans la microflore normale des volailles ;
- que les bactéries lactiques sont capables de survivre dans le tractus digestif (elles résistent au pH acide du Gésier et du Jabot) ;
- que les *Lactobacillus* ont un effet préventif sur les désordres digestifs[6],[8].

#### **III. 5.1. Efficacité sanitaire des probiotiques :**

Leur efficacité première se situe au niveau de l'aspect sanitaire : les *Lactobacillus* exercent des activités antibactériennes contre diverses bactéries pathogènes et notamment contre les germes fréquemment impliqués dans les infections des poulets : *Salmonella sp*, *Campylobacter*, *E.coli*. [8], [14].

**III. 5.2. Efficacité zootechnique :**

Les *Lactobacillus* sont également efficaces du point de vue performances zootechniques.

L'addition d'un probiotique, à base de *Lactobacillus*, à la ration alimentaire de poussins durant huit semaines améliore la croissance des animaux et l'indice de consommation.

Ces bactéries pourraient avoir un rôle d'épargne à l'égard des acides aminés alimentaires. En effet, lorsque des poulets sont alimentés avec des régimes pauvres en acides aminés (lysine et méthionine), ces bactéries lactiques rétablissent les performances zootechniques des animaux au même niveau que celles obtenues chez les poulets recevant une ration alimentaire non carencée.

D'autres espèces bactériennes sont utilisées comme probiotique en aviculture telles que les *Bacillus cereus* [8] , [14].



Partie

Expérimentale

Matériel & Méthodes

Notre étude a pour objectif d'évaluer l'effet probiotique de *Lactobacillus plantarum* BJ 434 sur la flore endogène et pathogène du poulet de chair. Pour cela notre travail comporte trois parties :

-Identification et la reconnaissance des souches pathogènes préalablement conservées et la répartition de leurs caractères biochimiques et culturels sur leurs milieux sélectifs

-Etude de l'interaction *in vitro* entre les bactéries lactiques et les bactéries: *Salmonella* B41 , *E.coli* 4, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*27853, *Proteus*, *Staphylococcus* ATCC 43866 .

- Etude de l'interaction *in vivo* entre la souche *Lactobacillus plantarum* BJ 434 et la flore endogène du poulet

Cette expérimentation s'est déroulée au laboratoire de microbiologie de la faculté de biologie de l'université de Jijel aussi dans une annexe qui est l'animalerie où les animaux étaient abrités.

## **II. 1 Matériel :**

### **II.1.1 Matériel biologique :**

#### **a. Les Souches bactériennes:**

Notre expérimentation a porté sur 08 souches bactériennes qui sont : *Salmenella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *E.coli* et *Lactobacillus plantarum* BJ 434

#### **b. Poussins :**

L'étude été menée sur 48 poussins de souche ISA 15 distribués en deux lots : 11 poussins de probiotiques plus 37 poussins témoins.

#### **c. Probiotique:**

La souche bactérienne utilisée comme probiotique est une bactérie lactique *Lactobacillus plantarum* BJ 434 isolée localement à partir du beurre traditionnel de la région de Jijel. Dont nous l'avons procurer du laboratoire de microbiologie de la faculté de Jijel .

**II. 1.2 Les produits:**

**a. Aliments :**

Il existe sur le marché trois types d'aliments disponibles pour les aviculteurs qui sont : démarrage, aliment de croissance et aliment de finition. (nous avons utilisées durant notre expérience que les deux dernier) de donné à volonté.

**La croissance** : utilisé pour l'alimentation du poulet de chair du 1<sup>er</sup> au 42eme jour en raison de 100 Kg.

**La finition** : ce dernier est utilisé du 43eme jour jusqu'à l'abattage avec une ration de 150 Kg.

Ces aliments sont fabriqués et distribués par l'établissement **CODAC** (Coopérative de Développement de l'Aviculture et de La .Cuniculture) qui se situe à Kaous.

L'aliment se présente sous forme broyée mise dans des sacs dont la composition est représentée dans le tableau suivant:

**Tableau 4: Taux d'utilisation des matières premières pour la préparation d'aliment de croissance et finition de CODAC :**

M.P	CROISSANCE		FINITION	
	%	normes	%	Normes
<b>Mais</b>	62	66,8	63	77
<b>Soja</b>	18	30	18	20
<b>CMV</b>	1,5	0,5	0,1	0,5
<b>Calcaire</b>	0,5	1	1	0,9
<b>Phosphate</b>	1,5	1,8	2	1,6
<b>Son gros</b>	15	-	15	-

**Mais** : céréale employée comme matière première pour préparer l'aliment des poulets (source énergétique).

**Soja** : matière première utilisée comme aliment pour les poulets (source protéique).

**Son gros :** matière fabriquée a partir de blé.

**CMV :** complexe vitaminique utilisé comme additif alimentaire au poulet

**b. Milieux de culture :**

Pour la recherche et le dénombrement de certaines flores endogènes et autres du poulet de chair on a utilisé :

- La gélose nutritive pour le dénombrement de la FTAM (voir annexe).
- Le milieu de Chapman pour le dénombrement et identification du *Staphylococcus* (voir annexe).
- Le milieu VRBG pour le dénombrement et identification des *entérobactéries* (voir annexe).
- Les milieux M17 et MRS pour le dénombrement et identification des bactéries lactiques (voir annexe).
- VF pour le dénombrement et la recherche des *Clostridium* CSR et ASR (voir annexe).
- L'eau peptonnée pour la recherche de *Salmonella* (pré- enrichissement) (voir annexe).
- Milieu Hektoen pour le dénombrement de *Salmonella* (isolement) (voir annexe).
- Milieu SFB pour la recherche de *Salmonella* (enrichissement) (voir annexe)

**c. Produits chimiques et réactifs :** (voir annexe)

- ◆ **Coloration de GRAM:** violet de Gentiane, lugol, alcool et Fuschine.
- ◆ **Examen direct :** bleu méthylène.
- ◆ **Clumping test :** sérum humain
- ◆ **Catalase:** eau oxygénée
- ◆ **Autres produits:** (voir annexe)

Réactif de KOVACS, eau physiologique, VP 1 et VP2, Alun de fer, sulfite de sodium, eau de Javel, eau distillée stérile, lait en poudre (0%).

## **II. 1. 3 Autres matériels:**

### **a. Matériels utilisés dans l'élevage :**

#### **◆ Mangeoires:**

Au court de notre expérimentation on a utilisé trois mangeoires de démarrage de capacité de 1 à 2 Kg.

#### **◆ Abreuvoirs:**

On a fait appelle à des abreuvoirs de démarrage de capacité de quatre litres.

### **b. matériel du laboratoire :**

On a utilisé un matériel essentiel pour mettre en œuvre notre travail: Thermomètre, Une balance, compteur de colonies, pipette Pasteur, Pipettes graduées (1, 5,10, 20ml), boîte de Pétri (en plastique plus en verre). bec benzun, spatule, becher, fiole, microscope optique, tubes à esais, flacons stériles, seringues, vortex, plaque chauffante, papier wattman et papier aluminium, verre à montre, pince, couteau, éprouvette.

## **II. 2. Méthodes :**

### **II. 2. 1 Etude in vitro:**

#### **II. 2. 1 .1 Revéification et identification des souches Bactériennes:**

##### **a. Revéification des bactéries:**

On procède à repiquer les souches étudiées sur milieux sélectifs. Les *Lactobacillus* sur MRS et M17, les entérobactéries sur HEKTOEN , les *Staphylococcus* sur chapmann et les *Pseudomonas* sur milieux King A et King B. Après incubation on note tous les caractères macroscopiques des colonies isolées

##### **b. Identification des bactéries:**

###### **b-1. Examen microscopique :**

on réalise un examen microscopique après coloration au bleu de méthylène et de GRAM et parfois on fait appel à un examen microscopique à l'état frais.

**b-2. Profil biochimique :**

► **Métabolisme des glucides:**

• **Utilisation des sucres**

Le milieu utilisé est celui de MEVAG (Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides) additionné de sucre.

Dans notre étude on a testée l'utilisation du glucose, saccharose et lactose avec une concentration de 20%.

L'utilisation des sucres est vérifiée par le changement de la couleur du milieu due à l'acidification.

L'incubation se fait à 37° C pendant 24 à 48h.

• **Fermentation des sucres en milieu TSI :**

Ce milieu permet de mettre en évidence plusieurs enzymes capables de dégrader le glucose, lactose et des acides aminés.

Le milieu estensemencé par une suspension bactérienne par piqûre centrale jusqu'au fond du tube et par stries superficielles sur la pente.

L'incubation se fait à 37°C/24h.

La lecture se fait en vérifiant la :

- ◆ fermentation du glucose : culot vire au jaune.
- ◆ production de gaz : décollement de la gélose du bas par la présence de gaz.
- ◆ fermentation du lactose : pente vire au jaune.
- ◆ utilisation des acides aminés : la pente rouge.
- ◆ production de sulfure d'hydrogène : la pente et culot noirs

• **Fermentation du mannitol (Mannitol mobilité):**

Le milieu mannitol mobilité permet de rechercher aussi bien la fermentation du mannitol que la mobilité bactérienne.

La dégradation du mannitol conduit à la formation des acides à chaînes très courtes comme l'acide acétique et l'acide formique.

Le milieu estensemencé par piqûre centrale puis incubé à 37°/24h.

Le virage de la couleur au jaune indique la fermentation du mannitol et cela par acidification du milieu.

Ainsi que la présence de stries diffuses tout au long de la strie initiale

Indique la mobilité du germe.

- **Test IMVIC (Indole/ Methyl-rouge / VP (Inositol)/ Citrate)**

Test d'indole

Certaines bactéries ont la capacité de dégrader le tryptophane en indole grâce à un tryptophanase.

Le milieu utilisé est une eau peptonnée exempte d'indole, il est ensemencé puis incubé à 37 °C pendant 24h.

Après incubation on rajoute le réactif de Kovacs, on homogénéise et on laisse reposer.

L'apparition d'un anneau rouge en surface caractérise la production d'indole.

- **Réaction de Voges-Proskaur (VP)**

Elle permet la mise en évidence de la production d'acétyle méthyle carbinol ou l'acétoïne à partir de la décarboxylation du pyruvate.

On ensemence le milieu de Clarck et Lubs. Après incubation on ajoute les deux réactifs VP1 et VP2. on agite et on laisse agir pendant 10 à 15 minutes.

La réaction VP (+) : coloration en rouge

Réaction VP (-) : aucun changement

- **Utilisation du Citrate de SIMMONS**

Les bactéries possédant une citrate perméase utilisent le citrate comme seule source de carbone dans le milieu. L'utilisation de cette substance engendre la libération des ions d'ammonium qui seront convertis en NH<sub>3</sub> puis en NH<sub>4</sub>OH. Cela entraîne l'alcalinisation du milieu de culture qui est révélée par le virage de l'indicateur coloré en bleu.



L'incubation se fait à 37°C pendant 24h. l'utilisation du citrate se traduit par un développement bactérien accompagné d'un virage de la couleur du milieu en bleu vert

► **Métabolisme protéique et des acides animés:**

• **Recherche de la L'arginine D'hydrolase (ADH):**

L'Arginine est décarboxylée en Agmatine ensuite il est hydrolysé en Putriscine. le milieu MOELLER enrichie de l'arginine est ensemencé par une culture jeune. L'incubation se fait à 37°/24h et plus.

Le changement de la couleur au violet est un témoin de la présence de ADH.

• **Recherche de la décarboxylase de lysine (LDC) :**

La décarboxylase agit sur la Lysine en produisant la Cadavérine et CO<sub>2</sub>.  
Le milieu MOELLER enrichi de lysine est ensemencé puis incubé à 37°C/24h.  
La Cadavérine produit réagit avec la Ninhydrine en donnant une coloration violette.

• **Recherche de L'Ornithine décarboxylase (ODC):**

La décarbxylyse agit sur L'Ornithine en produisant de la Putrescine.  
Le milieu MOELLER enrichi avec Ornithine est ensemencé par une suspension bactérienne puis incubé à 37c°/24h.

La présence de cette enzyme est indiquée par la coloration violette du milieu.

► **Tests supplémentaires :**

• **Clumping test (détection de la Coagulase liée) :**

- Mettre une goutte d'eau distillée ou physiologique sur une lame.
- Emulsionner les bactéries à tester âgées de 18-24 h
- Mélanger une goutte de plasma humain.
- Observer la formation Immédiate d'un coagulum blanc.

Un constituant superficiel de certains staphylocoques se fixe sur les fibrinogènes dans du plasma humain dilué à 1/5<sup>ème</sup>. Les staphylocoques s'agglutinent rapidement (il ne s'agit pas d'une réaction antigène -anticorps).

- **Test catalase:**

C'est une enzyme qui existe chez toutes les bactéries aérobies. Durant notre stage nous l'avons surtout pratiqué pour l'identification de *Staphylococcus sp*, et *Lactobacillus*.

- Prélever une colonie (milieu dépourvu de sang) et déposer sur une lame.
- Ajoutez une goutte d'eau d'oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% sur les bactéries.
- le dégagement immédiat de gaz O<sub>2</sub> indique un test positif.

## **II. 2. 1.2 Etude des interactions bactériennes:**

Cette technique suit le principe de l'antibiogramme sur milieu solide.

### **a- Effet *Lb plantarum* sur les bactéries étudiées :**

Le travail consiste en :

-l'ensemencement des bactéries:*Ecoli Enterobacter, Pseudomonas, klebsiella, Salmonella, Proteus, Staphylococcus*, sur leurs milieux sélectifs puis imprégner 28 disques du papier cellulosique (papier Wattman préalablement stérilisé) par bouillon MRS contenant *Lb plantarum BJ 434*. Ensuite les répertoriés en 4 disques sur la surface de chaque boites.

Après incubation on observe des zones d'inhibition.

### **b-Effet des bactéries sur *Lb plantarum* :**

On procède au travail inverse qui consiste :

- à ensemencer le *Lb plantarum BJ 434* sur deux boites MRS et cette fois 7 disques de Wattman sont imprégnés chacun par une souche puis distribuer sur les deux boites.

-Observer et reporter les valeurs des zones d'inhibition sur des tableaux.

Ce travail a pour but de connaître la résistance des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes qui se traduit par des diamètres différents pour chaque souche.

## **II.2.2 Etude *in vivo*:**

### **II. 2.2.1 Méthode d'élevage :**

Les poussins étaient répertoriés sur 2 lots :

-Le 1<sup>er</sup> lô: appelé lot probiotique contient 11 poussins qui possède un mangeoire et un abreuvoir.

-Le 2<sup>em</sup> lô: appelé lot témoin : contient 37 poussins qui possède 2 mangeoires et 2 abreuvoirs.

Tout au long de notre stage on a pris en considération les paramètres suivants :

- **Eclairage:**

L'animalerie était exposée à la lumière du jour et la lumière électrique a la nuit.

- **Température :**

La température était contrôlée par un chauffage électrique et l'estimation de celle-ci par des relevés quotidiens grâce à un thermomètre placé au sein de l'animalerie bien sur (25°C).

- **Ventilation :**

La ventilation de l'animalerie était assurée par une ventilation statique qui est les fenêtres, ainsi qu'une ventilation électrique par ventilateur fixé aux fenêtres.

- **Hygiène :**

Le nettoyage de l'animalerie est surtout les lots, s'effectuait chaque trois jours afin de préserver les poussins en bonne santé loin des maladies et cela par l'évacuation de la matière fécale et le reste d'aliment et l'utilisation de détergeant pour la désinfection.

Il faut noter qu'à la période de chaleur la fréquence de nettoyage était plus rapprochée : jusqu'à chaque jour.

### **II.2.2.2 Préparation et utilisation du probiotique:**

Le probiotique est préparé au début de l'expérimentation et avant chaque épuisement de la quantité de production c'est à dire chaque trois jours (surtout pour éviter le vieillissement des bactéries).

le probiotique est préparé de la manière suivante:

- On mélange 12g de lait en poudre (0 %) avec 88ml d'eau distillée stérile puis on le stérilise sur plaque chauffante à 100°C pendant 15 minutes. On ensemence ensuite 2 ml du levain *Lb plantarum* 434 .

-L'incubation se fait à 37°C jusqu'à la coagulation du lait.

-le probiotique ainsi préparé, est distribué dans des tubes stériles et conservé à 4°C.

Il est administré aux poussins 2 fois par jour : matin à 10h et le soir à 19 h. En raison de: **20ml/21**, puis **30ml/31**, enfin **40ml /41**.

Cette augmentation de la quantité du probiotique est due à la croissance des poussins dont la demande d'aliment et d'eau sont en croissance.

La figure 2 représente la méthode de préparation de probiotique.

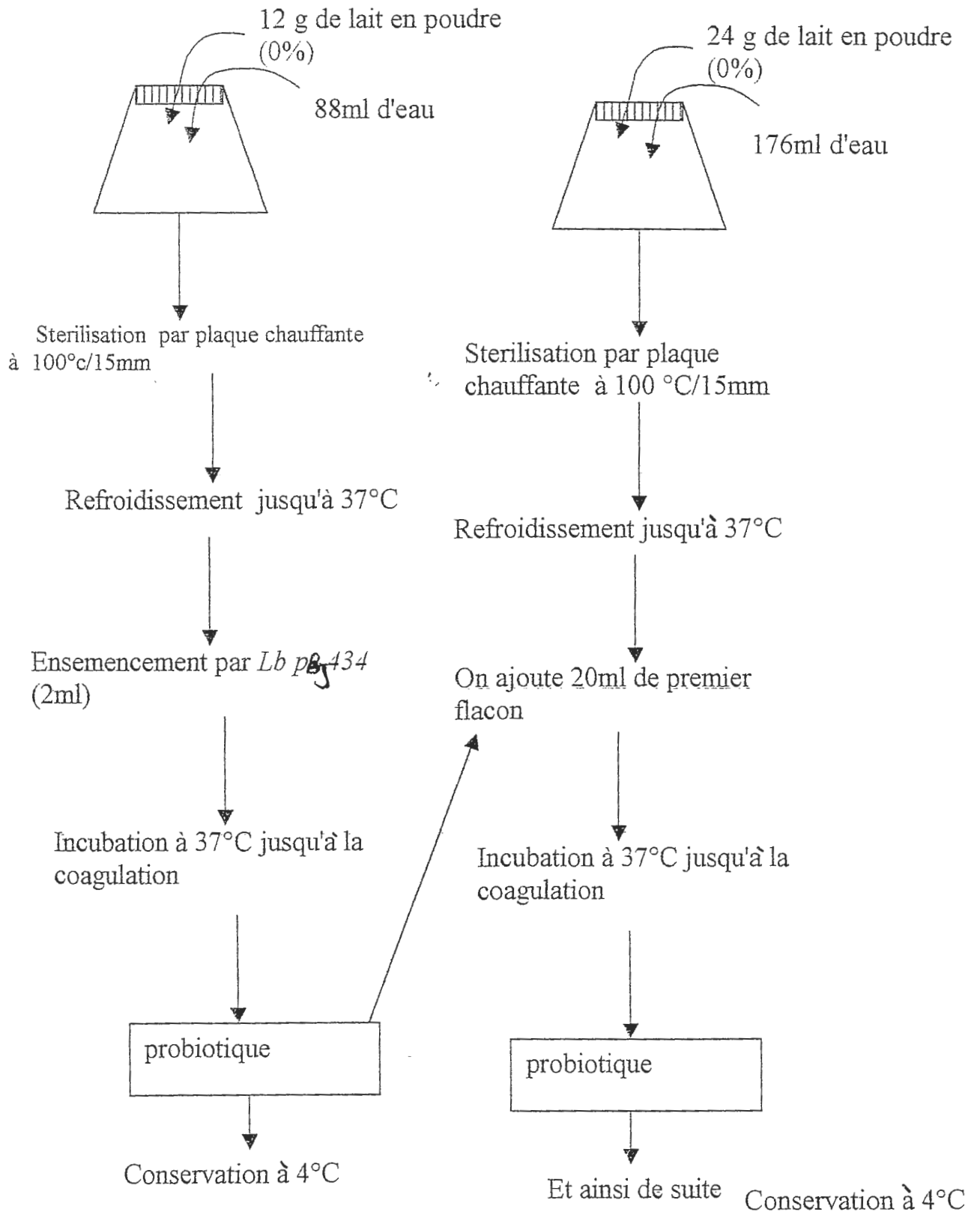


Figure2: Méthode de Préparation du probiotiques *Lb pBJ434*

### **II.2.2.3 Evaluation de la flore endogène :**

#### **a-Echantillonnage:**

De chaque lot, on prélève chaque semaine 6g de matière fécale dans du papier aluminium ou verre à montre stérile : à savoir que 4 g pour les dénombrements des bactéries CT, CTT, *Clostridium* , *Staphylococcus sp*, Streptocoques, FTAM et *Lb plantarum* BJ 434 et 2 g pour la recherche de *Salmonella*.

#### **b-Dilutions décimales:**

La solution mère est obtenue par le mélange de la matière fécale prélevé avec 40ml d'eau distillée stérile dans un flacon stérile. A partir de cette solution mère on prépare des dilutions décimales jusqu'à ( $10^{-19}$ ) avec la précaution de changer la pipette après chaque dilution.

#### **c-Dénombrement de la FTAM :**

Le dénombrement de la FTAM est réalisé par ensemencement en masse de la gélose nutritive à partir de la dilution  $10^{-11}$  (afin d'évité la formation d'un tapis bactérien). On homogénéise puis on incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h (voir fig 3).

- Incuber à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h.

#### **d-Dénombrement de *Lactobacillus plantarum*:**

Ce dénombrement se fait par ensemencement en surface des deux milieux MRS et  $M_{17}$  à partir de la dilution  $10^{-9}$ . On étale à l'aide d'un râteau stérile puis on incube à  $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ . Le résultat est confirmé par une coloration de GRAM et test Catalase (voir fig3).

#### **e-Dénombrement des Entérobactéries :**

Réalisé par ensemencement masse de deux boites du milieu VRBG à partir de la dilution  $10^{-6}$ . On coule 12 ml du milieu VRBG refroidi on mélange et on laisse refroidir puis ajoute une couche mince du même milieu pour assurer l'anaérobiose.

On incube une boîte à 37°C pour les CT et une boîte à 44°C pour les CTT pendant 24 à 48h (voir fig3).

**f-Dénombrement de *Staphylococcus* sp:**

Le dénombrement des *Staphylococcus* est réalisé par ensemencement en surface du milieu de Chapman à partir de la dilution  $10^{-6}$ .

On incube à 37 °C pendant 24h. l'identification de ces bactéries est effectuée par une coloration de GRAM, un test Catalase et Clumping test (voir fig3).

**g-La recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :**

Le dénombrement des Streptocoques fécaux est basé sur la succession de deux test sur milieu liquide: présomptif et confirmatif.

La numération présomptive est réalisée sur milieu ROTHE. Deux tubes de double concentration sont ensemencés par 1 ml de la dilution  $10^{-4}$ , deux tubes de simple concentration par 1 ml de  $10^{-5}$ , et deux tubes de simple concentration par 1 ml de la dilution  $10^{-6}$ . On incube pendant 24 h à 37°C

La confirmation des tubes positifs est réalisée par une subculture sur milieu Litsky. Après incubation à 37°C/24h, l'apparition d'une pastille violette est une confirmation de la présence de Streptocoques fécaux (voir fig 3).

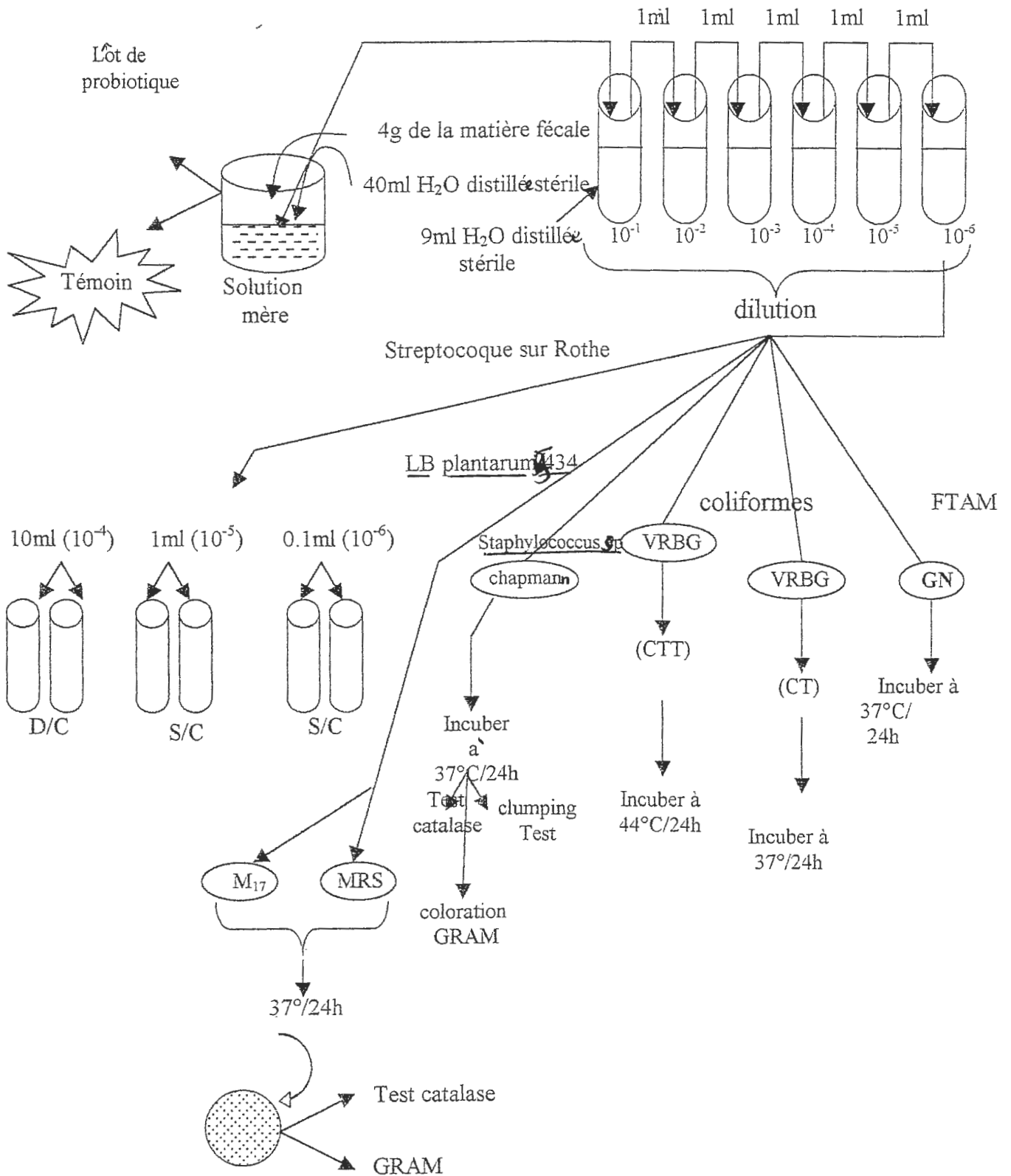


Figure 3 : schéma récapitulatif de la méthode de dilution et recherche des différents flores pour chaque lô expérimental



### **h-Recherche de *Salmonella*:**

La recherche de *Salmonella* se fait en plusieurs étapes :

Un pré-enrichissement, un isolement et une identification avec un protocole de travail bien défini.

- **Pré-enrichissement** : la prise d'essai 2g de MF est mélangée avec 20ml d'eau peptonnée et incubée à 37°C pendant 24h
- **L'enrichissement** : On prend ensuite 1 ml de la solution du pré-enrichissement et l'ensemencé dans un tube de SFB . On incube à 37°C pendant 24 h.
- **L'isolement** sur milieu M<sub>17</sub> Hektoen (voir fig 4).

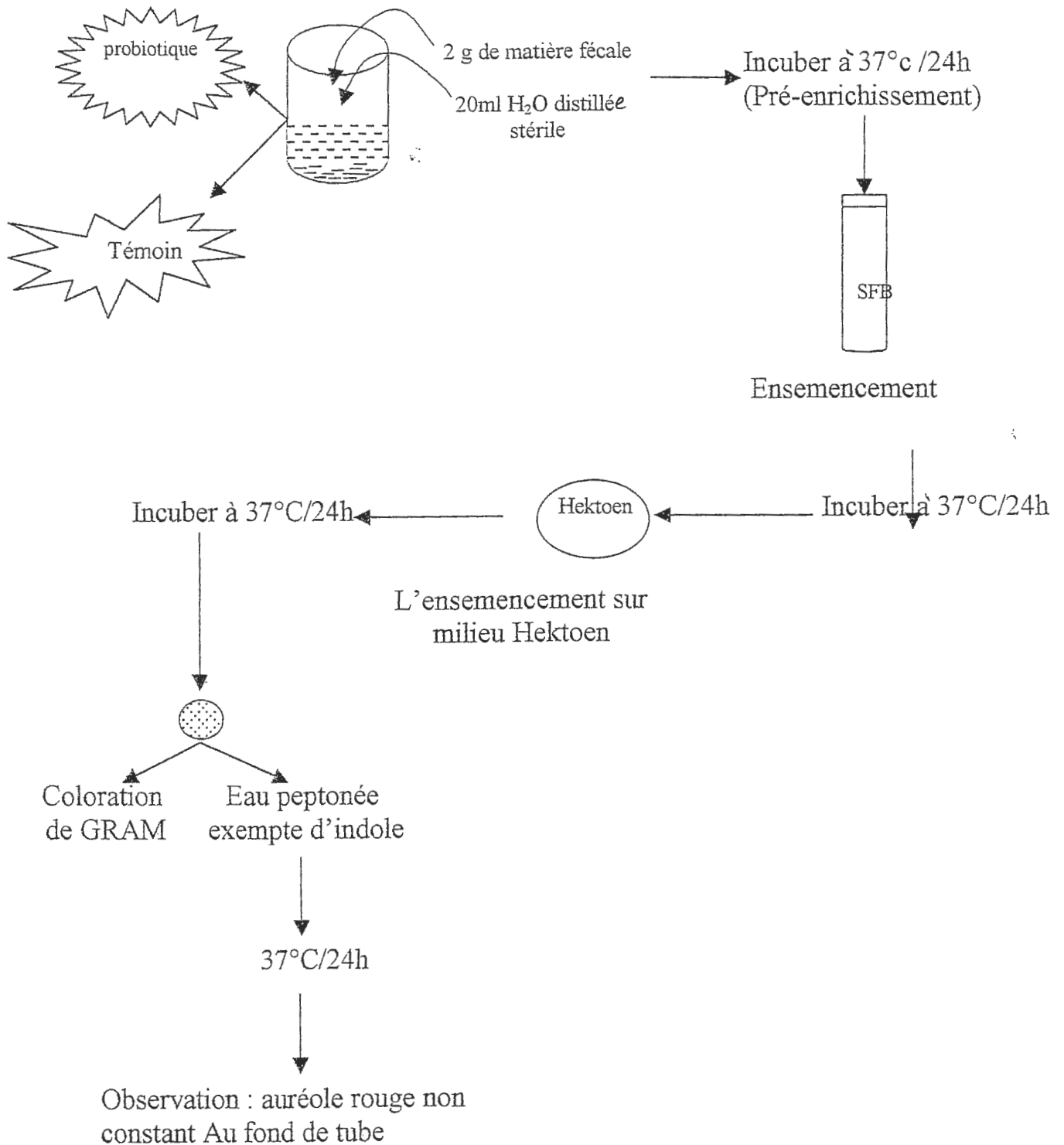


Figure 4: Schéma récapitulatif de la recherche de *Salmonella* Pour chaque lô t expérimental

### **i-Dénombrement de Clostridium :**

Le dénombrement des CSR et des ASR 46°C est réalisé en 2 tubes de gélose profonde en utilisant de milieu VF. Ce dénombrement se fait en plusieurs étapes :

- **Destruction des formes végétaives :** par chauffage au bain- marie à 80°C pendant 10 minutes.
- **Préparation du milieu :** on ajoute au milieu VF quelques gouttes d'alun de fer et sulfite de sodium.
- **Ensemencement :** On dépose 1ml de la suspension précédemment chauffée dans un tube et on rajoute le milieu déjà préparé. On incube les ASR à 46 °C et CSR à 37°C pendant 24 h.

### **II. 2.3 L'abattage des animaux :**

On prend au hasard un poulet âgé de 56 jours du lot probiotique dont le poids est 2.300 kg.

Après l'abattage on sépare le tube digestif des autres viscères. On prend ensuite le Jabot entier, le Gésier et une partie du Duodénum et on les mis dans des tubes stériles contenant un milieu nutritif. On les incube à 37°C pendant 24h.

Après incubation, on procède à des dilutions du milieu nutritif jusqu'à (10<sup>-19</sup>) pour les trois tubes.

On ensemence 3 boites de MRS et M<sub>17</sub> par quelques gouttes de la dilution (10<sup>-19</sup>) de chaque organe et on incube à 37°C /24h..

Après le dénombrement de chaque boite on procède à une coloration de GRAM et test catalase pour confirmer les résultats. (Voir fig 5)

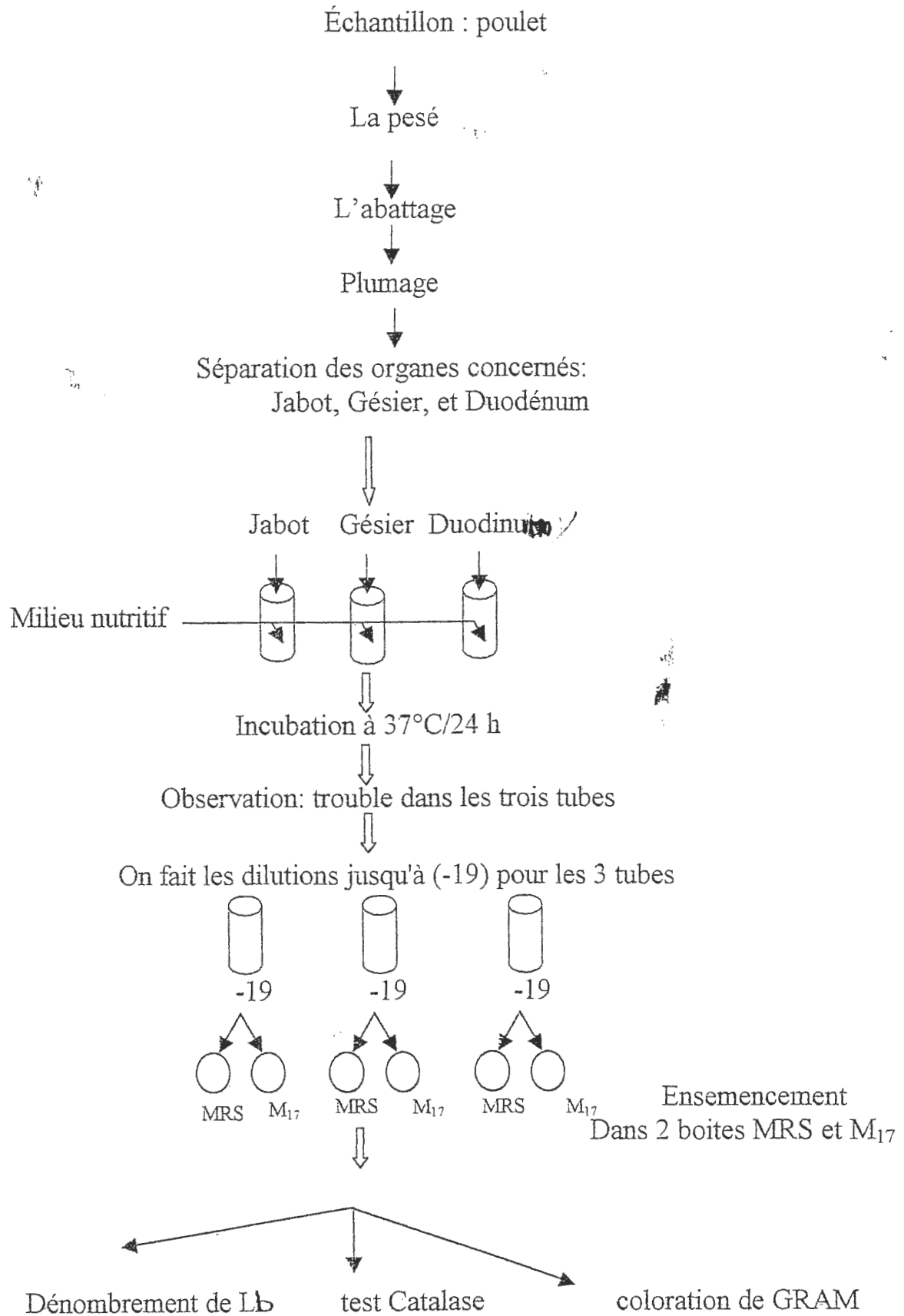


Figure 5 : protocole de l'abattage jusqu'au le dénombrement des bactéries lactiques à partir du tube digestif d'une poule du lô t probiotique

# Résultats & discussion

### **III. 1. Identification des souches étudiées :**

**III. 1.1 Caractères morphologiques et culturels :** Ces caractères sont résumés dans les tableaux 5 et 6

#### **Les entérobactéries :**

L'examen microscopique après coloration de GRAM montre qu'il s'agit de bacilles ou coccobacilles GRAM négatif.

L'examen macroscopique des milieux Hektoen ensemencés par les différentes espèces à vérifier des entérobactéries donne les résultats suivants :

♦ La souche *Salmonella* donne des colonies très caractéristiques vertes avec ou sans centre noir.

♦ La souche d'*E.coli* donne des colonies jaunes muqueuses avec acidification du milieu due à l'utilisation du lactose.

♦ La souche de *Proteus* donne des colonies envahissantes. L'envahissement des milieux gélosés est un caractère très distinctif des *Proteus*.

♦ Les souches d'*Enterobacter* et de *Klebsiella* donnent respectivement de grandes colonies blanchâtres et de grandes colonies muqueuses.

#### ***Pseudomonas* :**

L'examen microscopique de la souche *Pseudomonas* montre qu'il s'agit de bacilles GRAM négatifs.

L'examen macroscopique des deux milieux King A et King B montrent la présence des colonies blanchâtres sans coloration du milieu en bleu ou en vert.

#### ***Staphylococcus* :**

L'examen microscopique après coloration de GRAM nous a permis de distinguer des cocci, GRAM positifs regroupés en grappes de raisin (caractère distinctif des *Staphylococcus*).

L'examen macroscopique après ensemencement du milieu sélectif Chapman montre la présence des colonies pigmentées en jaunes et muqueuses.

Tableau 5: La coloration de GRAM des différentes souches testées

Souche	Coloration de GRAM	Forme des cellules
<i>Lb plantarum</i> B434	Violet	Bâtonnet
<i>Salmonella</i> B 41	Rose	Bâtonnet coccobacille
<i>Klebsiella</i>	Rose	Bâtonnet
<i>E.coli</i> 4	Rose	Bâtonnet
<i>Pseudomonas</i> 278532	Rose	bacilles
<i>Staphylococcus</i> ATCC 43866	violet	Cocci en grappe de raisin
<i>Proteus</i>	Rose	Bâtonnet
<i>Enterobacter</i>	Rose	Bâtonnet

Tableau 6: Aspects des colonies de chaque souche sur milieu sélectif :

souche	Milieu	Observation des colonies
<i>Staphylococcus</i> ATCC 43866	Chapmann	jaune muqueuse
<i>Salmonella</i> B14	Hektoen	verte
<i>E.coli</i> 4	Hektoen	jaunes muqueuses avec acidification du milieu
<i>Proteus</i>	Hektoen	petites jaunes
<i>Klebsiella</i>	Hektoen	grandes et muqueuses
<i>Enterobacter</i>	Hektoen	grandes blanchâtres
<i>Lb plantarum</i> B434	M <sub>17</sub> +MRS	petites blanchâtres

***Lactobacillus plantarum* #34 :**

L'observation microscopique de la souche probiotique *Lb plantarum* a montré qu'il s'agit des bâtonnets GRAM négatifs.

Sur milieu MRS les colonies ont été petites et blanchâtres .

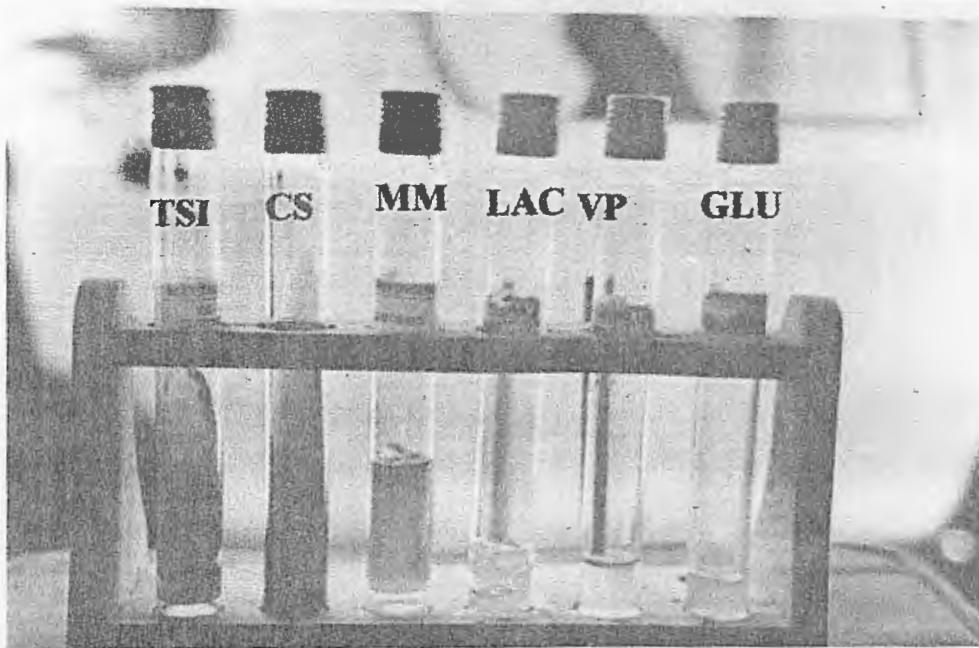
**III. 2. Identification biochimique :**

Le tableau 7 donne les résultats de l'identification biochimique des souches d'entérobactéries, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* et de *Lb plantarum*.

**Les entérobactéries :**

L'identification biochimique des entérobactéries étudiés au cours de notre étude montre que toutes les espèces utilisent le glucose avec production de gaz.

♦ La souche d'*E.coli* est mobile, fermente le lactose, saccharose, mais n'utilise le citrate de Na comme seul source de carbone. Elle produit de l'indole, ne produit de l'acétoine VP. Elle a une réaction ADH (-), ODC (-) et LDC (-) .



**Figure 06 identification biochimique d'*E.coli***



♦ Le profil biochimique de la souche *Salmonella* montre qu'il s'agit de bactérie mobile, utilise le citrate comme seul source de carbone, ne fermente pas le lactose ni le saccharose, ne produit pas l'indole ni l'acétoïne VP<sup>-</sup>. Elle n'utilise pas les trois acides aminés LDC (-), ODC (-) et ADH (-).

♦ L'identification biochimique de la souche *Proteus* montre qu'il s'agit de germes très mobiles, utilise le citrate de Na, utilise le saccharose mais n'attaque pas le lactose. elle produit l'indole mais ne produit pas l'acétoïne VP<sup>-</sup> et elle est LDC(-), ODC (-) et ADH (-).

♦ la souche de *Klebsella* testée au cours de notre étude est une bactérie immobile, fermente le saccharose, le lactose et utilise le citrate comme seul source de carbone. Ne produit pas l'indole, ni l'acétoïne VP<sup>-</sup>. Elle est LDC (+), ODC (-) et ADH (-).

♦ le profil biochimique de la souche d'*Enterobacter* permet de distinguer des bactéries mobiles, n'utilisent pas le citrate de Na, produisent l'acétoïne VP<sup>+</sup>, ne produisent pas l'indole. Elles fermentent le lactose mais pas le saccharose. Elles sont LDC (+), ODC (-) et ADH (-).

### *Pseudomonas*

L'identification de la souche de *Pseudomonas* montre qu'il s'agit de bactéries mobiles et par opposition des entérobactéries elles ont un métabolisme oxydatif donc elles sont VP<sup>-</sup>, RM<sup>-</sup> et indole<sup>-</sup>

Elles sont LDC (-), ODC (+) et ADH (-)

### *Staphylococcus ATCC 43866*

La souche de *Staphylococcus* testée est une bactérie mobile, catalase+, fermente le lactose, le saccharose et le glucose mais sans production de gaz. Ne produit pas l'indole, ni l'acétoïne et n'utilise pas le citrate de Na. Elle est LDC (-), ODC(-) et ADH (+).

Tableau 7 : Les profils biochimiques des souches

	<i>Salmonella</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Protéus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Lactobacillus</i>
Mobilité	+	-	+	+	-	+	+	-
Citrate	+	+	-	-	-	+	-	-
VP	-	-	-	+	-	-	-	-
Production d'Indole	-	-	+	-	-	+	-	-
LDC	-	-	-	+	+	-	-	+
ODC	-	-	-	-	-	-	+	+
ADH	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	-	-
Fermentation du Glucose	+	+	+	+	+	+	-	+
Fermentation du Saccharose	-	+	+	-	+	+	-	+
Fermentation du Lactose	-	+	+	+	+	-	-	+
Production de Gaz	+	+	+	+	-	+	-	-

+: test positif

-: test négatif

***Lactobacillus plantarum* BJ 434 :**

Le profil biochimique de cette souche a révélé qu'il s'agit de bactérie immobile, catalase +, capable d'utiliser le glucose, saccharose et le lactose sans production de gaz ( elle est donc homofermentaire). Elle possède une LDC (+), ODC (+) mais pas ADH (+)

**Clumping test :**

*Staphylococcus ATCC* :43866: + + +

*Salmonella* B41: +

Les caractères morphologiques, culturels et les profils biochimiques ainsi obtenus répondent globalement aux caractères distinctifs des bactéries étudiées sauf l'utilisation des acides aminés. Ceci pourrait être expliqué par la composition des milieux utilisés qui peuvent être périmés

**III. 3. Etude des interactions in vitro :**

**III. 3. 1 Effet du *Lb plantarum* BJ 434 sur la croissance des bactéries étudiées :**

D'après les résultats obtenus dans le tableau 8 on remarque que la souche probiotique *Lb plantarum* BJ 434 testée au cours de notre étude possède une activité antibactérienne décelable contre les souches bactériennes étudiées. Cette activité est mise en évidence par l'apparition des zones d'inhibition dont le diamètre le plus important est obtenu avec *Staphylococcus* 12 mm et *Pseudomonas* 10 mm.. Pour les entérobactéries on a remarqué des zones d'inhibition avec un diamètre qui varie de 8 à 10 mm.

Cela laisse croire que celles aux plus grands diamètres sont plus sensibles aux bactéries lactiques que celles aux diamètres inférieurs

Tableau 8: Interactions entre les souches et *Lb plantarum* BJ 434 :

La souche de la boîte	Ø de zone d'inhibition
<i>Pseudomonas</i> 27853 sur king A	10 mm
<i>Pseudomonas</i> 27853 sur king B	09 mm
<i>Staphylococcus</i> ATCC43866	12 mm
<i>Salmonella</i> B41	08 mm
<i>Proteus</i>	08 mm
<i>E.coli</i> 4	09 mm
<i>Klebsiella</i>	10 mm
<i>Entérobactèr</i>	09 mm

Ce résultat est expliqué par plusieurs auteurs : NATHALI et al (1997), JUVEN B. J et al 1991 et PHILIPPE MARTEAU (2004) qui signalent que les probiotiques peuvent réprimer la croissance de certains germes pathogènes par :

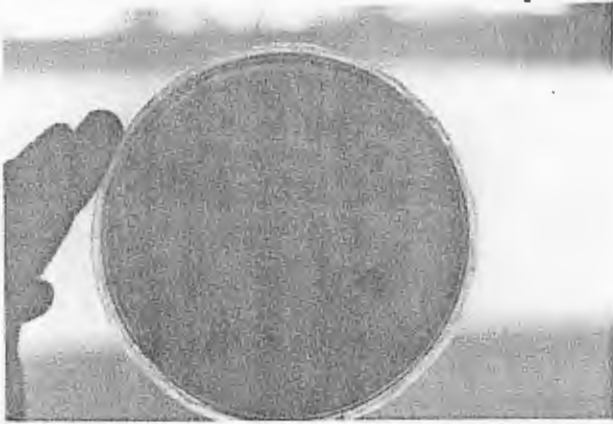
- la production de substances antimicrobiennes de type **Bactériocines** ;
- la production des acides organiques (l'acide lactique et l'acide acétique) suite à l'utilisation du lactose. En effet Selon NATHALI et al (1997) plusieurs expériences réalisées *in vitro* en recréant artificiellement le Jabot des poulet ( qui est le site d'une colonisation importante des *Lactobacillus*, produisant de grandes quantités d'acide lactique et acétique) confirment le rôle inhibiteur des *Lactobacillus* sur les souches d'*E. coli* et *Salmonella*.
- la production du peroxyde d'hydrogène qui inhibe la croissance des bactéries indésirables comme *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Clostridium* , *Pseudomonas* et *Salmonella*.
- Enfin l'activité antagoniste pourrait être également expliquer par un phénomène de compétition pour les nutriments.

**III. 3. 2 Effet des souches étudiées sur La croissance *Lactobacilus* :**

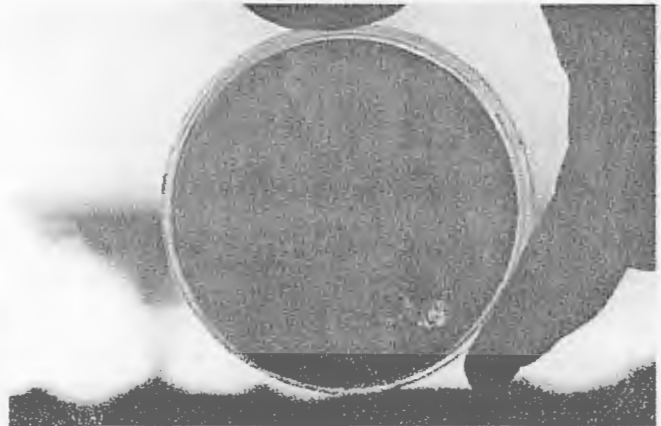
**Tableau 9 : Interactions entre les *Lb plantarum* BJ 434 et les différentes souches à l'état inverse:**

La souche de disque	Ø de zone d'inhibition
<i>Entérobactèr</i>	07 mm
<i>Pseudomonas 27853</i>	06 mm
<i>Staphylococcus ATCC43866</i>	08 mm
<i>Salmonella B41</i>	09 mm
<i>Proteus</i>	09 mm
<i>E.coli 4</i>	08 mm
<i>Klebsiella</i>	09 mm

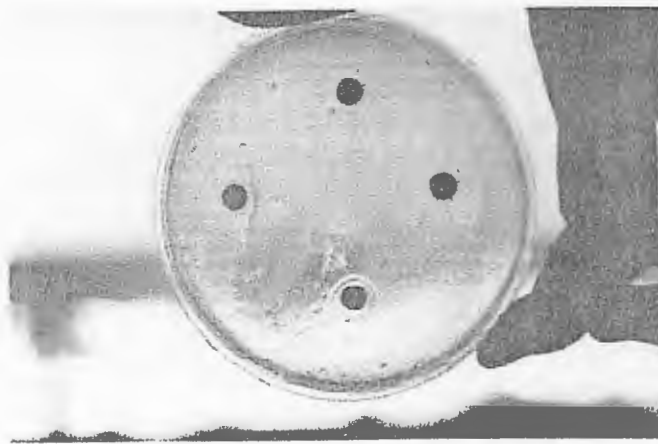
Concernant le travail inverse, en se referant aux résultats, on constate que tous les diamètres de la zone d'inhibition sont inférieurs à 10 mm et donc en peut expliquer cela par une certaine résistance des bactéries lactiques vis-a- vis des autres bactéries étudiées.



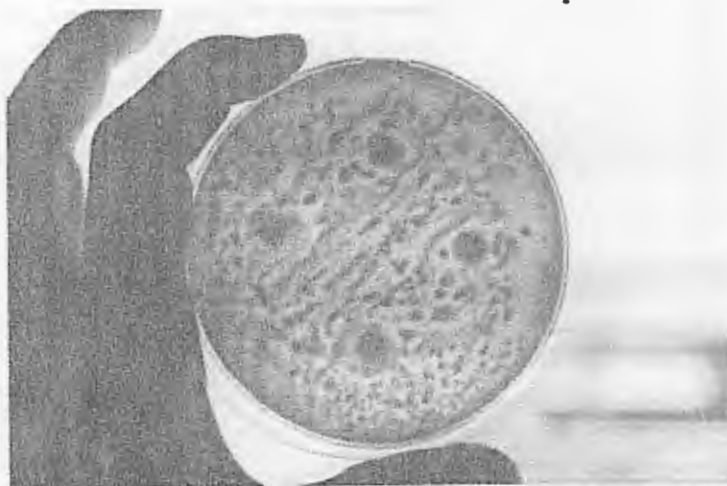
*Salmonella*



*Entérobactèr*



*Proteus*



*E. coli*

**Figure 07: Zone d'inhibition exercer par *Lactobacilus plamtarum* sur les souches étudiées**

**III. 4 Etude des interactions in vivo :**

**III.4 .1 Évolution du nombre de la FTAM :**

**Tableau 10: Évolution des nombres de la FTAM ( $\times 10^{15}$  germes/g de M.F)**

L'évolution du nombre de la FTAM dans la matière fécale est illustré dans le tableau 10.

lôt \ période	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Témoin	0.0025	tapis	tapis	Tapis	tapis	tapis
Probiotique	X	tapis	1124	785	475	265

Pour le lôt témoin, le taux de la flore totale est indénombrable (tapis) depuis la deuxième semaine d'élevage. Ceci est expliqué par la colonisation du tractus digestif par une flore microbienne. Selon plusieurs auteurs [8],[14], chez les volailles il suffit de deux semaine pour que la flore normale soit installée dans le Jäbot, le Gésier et l'intestin grêle.

Pour le lôt d'animaux recevant les probiotiques nous remarquons une diminution considérable de la flore totale.

Ce résultat confirme clairement les constatations de plusieurs auteurs [8],[14] qui démontrent que les probiotiques jouent un rôle primordiale dans le maintien d'une balance microbienne bénéfique : ils améliorent l'équilibre de la flore intestinale.

En effet plusieurs travaux montrent que les préparations à base de *Lactobacillus* sont une façon sécuritaire et naturelle d'aider l'animal à stabiliser sa digestion en établissant un environnement gastro-intestinal sain et équilibre.

L'équilibre de flore intestinale ainsi créer participe à empêcher la pénétration des Ag hostiles ou la pullulation des germes pathogènes.

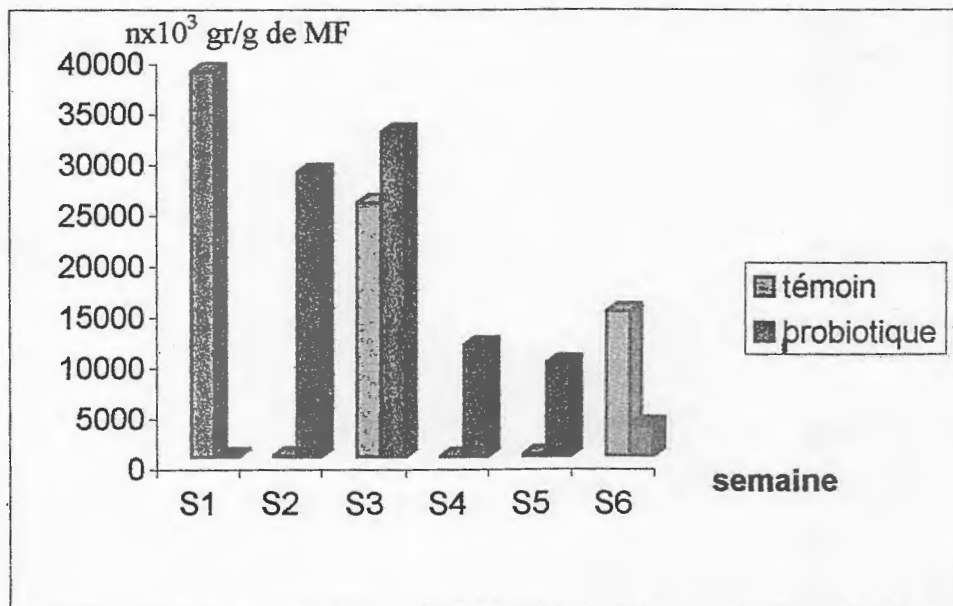
L'administration des probiotiques prend donc toute importance lorsque la microflore intestinale n'a pas atteint son équilibre (jeunes animaux) ou lorsque son action normale est perturbée [14].

**III. 4.2.Évolution du nombre des coliformes totaux :**

Evolution du nombre de CT dans la MF est illustré dans le tableau 11.

**Tableau 11 : Évolution du nombre des coliformes totaux:(  $\text{nx}10^3\text{gr/g}$  de M.F)**

période \ lôt	S1	S2	S3	S4	S5	S6
témoin	38000	60	25000	0.34	238	14200
Probiotique	X	28000	32000	11000	9200	3000



**figure 8 : représente l'évolution du nombre des coliformes totaux dans la matière fécale des poulets des 2 lots.**

Pour le lôt témoin on note un nombre élevé de CT dans la MF durant la 1<sup>ère</sup> semaine, la 3<sup>ème</sup> semaine et 6<sup>ème</sup> semaine d'élevage du poulet. Ceci pourrait être expliquer par l'apparition des diarrhées pendant ces semaines et surtout en fin d'élevage (S6).



Pour le lot d'animaux recevant le probiotique on note un taux de CT très élevé durant la 2<sup>ème</sup> semaine et la 3<sup>ème</sup> puis une diminution du nombre depuis la 4<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la 6<sup>ème</sup> semaine.

Par rapport au lot témoin on note toujours un taux de CT plus élevé avec le lot probiotique (sauf la dernière semaine).

Ce résultat pourrait être expliqué par une activité antagoniste des *Lb* testées au cours de notre étude contre les CT.

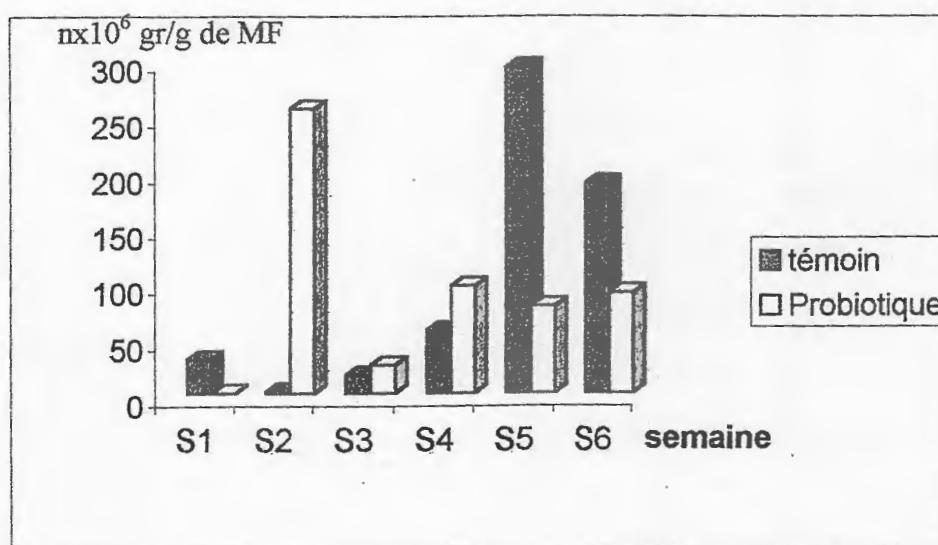
Cet effet bénéfique pourrait être expliqué selon plusieurs auteurs [8],[14],[15] par une compétition pour les sites d'adhésions au niveau de la muqueuse intestinale, soit pour les nutriments.

### III. 4.3 Évolution du nombre des coliformes thermotolérants :

La figure 9 : donne l'évolution du nombre de CTT dans la MF.

**Tableau 12 : Évolution du nombre des coliformes thermotolérants  
( $\times 10^6$  gr/g de MF)**

période \ lot	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Témoin	30	1	16.1	56.4	292	188
Probiotique	x	255	25	96	77.5	90



**Figure 9 : Evolution du nombre de CTT**

La figure 7 donne l'évolution du nombre de CTT dans la MF.

Pour le lot témoin on note un taux de CTT très élevé pendant la S5. Ce résultat pourrait être expliqué soit:

- par l'apparition des diarrhées.
- par l'ingestion d'aliments souillés par les fèces.

Pour le lot d'animaux recevant le probiotique on a enregistré un taux élevé de CTT pendant la S2.

Par rapport au lot témoin on note toujours (sauf la S5) un taux de CTT plus élevé avec le lot probiotique. Ce résultat montre que la souche probiotique testée au cours de notre étude exerce une activité anti-bactérienne contre le CTT.

En effet selon plusieurs auteurs, PHILIPPE MARTEAU et al (2004), NATHALI et al (1997), la colonisation du tube digestif des poulets Gnotoxéniques par des souches de *Lb* réduits le nombre d'*E.coli* d'un facteur de 100 à 1000 au niveau du Jabot et 10 au niveau de l'Ilion.

Selon NATHALI et al (1997) l'administration des souches probiotiques de *Lb* (*Lb reuteri* ou *Lb bulgaricus*) chez le poulet entraîne une diminution considérable du pH et par voie de conséquence de souche d'*E.coli*.

#### **III. 4. 4 Évolution du nombre de *Lactobacillus plantarum*BJ434 :**

Selon la figure 8 ,on peut repartir l'évolution du nombre de *Lb* au cours de notre étude en 4 étapes

Tableau 13:Évolution du nombre de *lactobacillus plantarum* 8j434 (n x10<sup>9</sup> germe/g de M.F)

Période	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Lôt						
probiotique	X	2	8	153	119	267

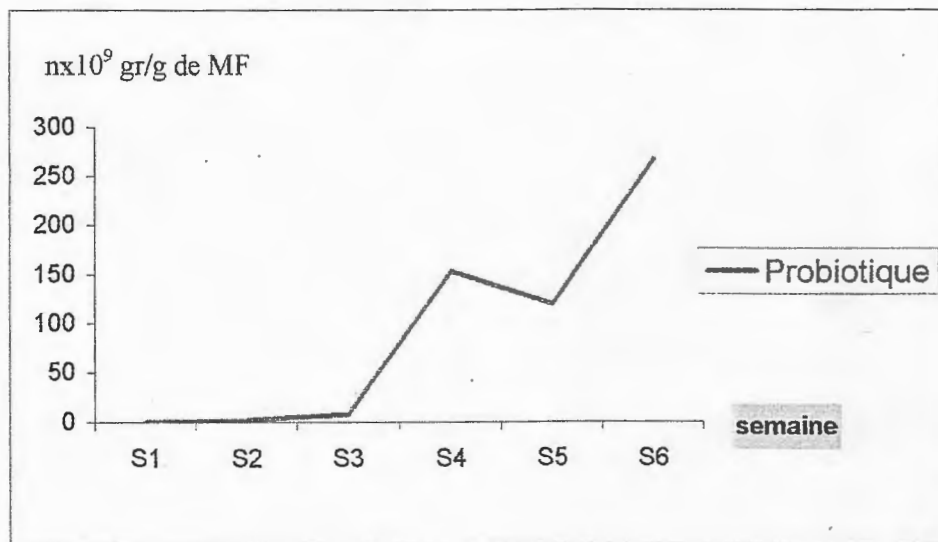


Figure 10 : Evolution du nombre de *lactobacillus plantarum* 8j434

- De la 1<sup>ère</sup> semaine jusqu'à la 3<sup>ème</sup> semaine : c'est une phase d'adaptation, on a enregistré un taux faible de *Lactobacillus* dans la MF ;
- De la 3<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la 4<sup>ème</sup> semaine : le poussin est en plein croissance et on a noté une augmentation considérable du taux de *Lb* dans la MF ;
- De la 4<sup>ème</sup> jusqu'à la 5<sup>ème</sup> : on a noté une diminution du taux de *Lb* dans la MF ;
- Enfin de la 5<sup>ème</sup> semaine jusqu'à la 6<sup>ème</sup> semaine : c'est une phase de finition où on a enregistré encore une fois une augmentation très importante du nombre de *Lb*.

Pour la 1<sup>ère</sup> étape (S1 –S3), le résultat ainsi obtenu peut être expliqué par l'adhésion et la colonisation du tractus digestif par la souche étudiée .

Ce résultat confirme celui obtenu avec la FTAM, et CT, CTT qui montrent que la souche *Lb* testée a exercé des effets d'équilibrage de la flore totale et des activités antagonistes vis à vis des CT et CTT donc elle a pu résister aux sucs gastriques et aux sels biliaires et éventuellement elle a pu s'adhérer aux cellules de la paroi intestinale.

Pour la 2<sup>ème</sup> étape (S3 –S4), le nombre très élevé de *Lb* pourrait être expliqué soit par:

-l'apparition des diarrhées (S3). Ce résultat est confirmé par d'autres travaux réalisés dans le même laboratoire et sur les mêmes animaux qui montrent une augmentation considérable du taux de globules blancs ce qui confirme l'apparition d'une infection bactérienne (diarrhées).

- un effet de barrière exercé par la microflore intestinale sur la souche probiotique étudiée. Parce que selon NATHALI et al (1997), l'effet de barrière de la microflore intestinale peut bien évidemment s'exercer sur les bactéries probiotiques.

Pour la 3<sup>ème</sup> étape le taux des lactobacilles a diminué ,

A partir de la 5<sup>ème</sup> semaine d'élevage, on a enregistré le taux le plus élevé en *Lactobacillus* dans la MF. Ce résultat pourrait être expliqué soit :

-par l'apparition encore une fois des diarrhées au cours de cette semaine, confirmée par les autres travaux par un taux élevé en globules blancs.

-par un déséquilibre de la flore intestinale due à un déséquilibre alimentaire au cours de cette semaine. Puisque on a noté une consommation accrue d'eau (due aux conditions climatiques : augmentation de la température), et une très faible consommation de l'aliment par manque de ce dernier.

Pour confirmer les germes obtenus qui sont ensemencés dans le milieu MRS, on a fait la coloration de GRAM, une observation microscopique et test catalase.

Les résultats enregistrés dans le tableau suivant :

Tableau 14 : la coloration de GRAM de *Lactobacillus plantarum* J434 .

Période Test	S1	S2	S3	S4	S5	S6
GRAM	x	+	+	+	+	+
Forme morphologique	X	Bacille diplobacille	Cocobacille bacille	Bacille (++++)	Bacille Cocci streptocoque	Bacille cocci
Catalase	x	—	—	—	—	—

### III.4.5 Evolution du nombre de *Salmonella* :

Tableau 15 : Evolution du nombre de *Salmonella* ( $n \times 10^1$  gr/g de MF) :

lôt \ période	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
Témoin	Abs	abs	abs	Abs	abs	abs
Probiotique	X	abs	abs	Abs	abs	abs

abs : absence

Le tableau 15 montre l'absence totale des Salmonelles aussi bien pour le lot témoin que pour le lot probiotique, ce qui confirme que notre lieu d'expérimentation (animalerie) était un milieu propre et sain pour les poulets étudiés. Ceci est le résultat d'une élimination permanente des fèces, ainsi qu'un lavage et une désinfection par l'eau de Javel.

Ce résultat confirme ainsi la bonne qualité microbiologique de l'eau utilisée par les poulets.

Cependant, l'hygiène est importante dans une stratégie de maintien d'un bon état de santé et fait partie d'un bon régime d'élevage.

III. 4. 6 Evolution du nombre *Clostridium* :

Tableau 16 : Evolution du nombre de *Clostridium* ( $n \times 10^1$  gr/g de MF) :

Lots	période	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
		Témoin	ASR 46°C	abs	abs	abs	abs
	CSR	Abs	abs	abs	abs	abs	abs
Probiotique	ASR 46°C	abs	abs	abs	abs	abs	abs
	CSR	abs	abs	abs	abs	abs	abs

Le tableau 16 représente l'évolution du nombre de *Clostridium* sulfito-réducteur et anaérobie sulfite-réducteur 46°C.

Au cours de notre expérimentation, on a noté une absence totale de ces deux germes dans la matière fécale des différents lots. Ces résultats reflètent l'hygiène impeccable de l'alimentation et d'eau ainsi que les abreuvoirs et mangeoires et surtout la maîtrise de la température par les prises quotidiennes de celle-ci présence

III. 4. 7 Evolution du nombre de *Streptococcus sp* :

Tableau 17 : Evolution du nombre des Streptocoques sp.

Lot	Témoin					probiotique								
	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	Nc	Npp	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	Nc	Npp				
S <sub>1</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S <sub>3</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S <sub>5</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S <sub>6</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Le tableau 17 représente l'évolution du nombre de *streptococcus sp* au cours de l'élevage.

D'après nos résultats le test présomptif pour la recherche des streptocoques fécaux était positif sur toutes les semaines. Mais le test confirmatif c'est avéré négatif au cours de toute l'expérimentation.

Ces résultats peuvent être dues:

- soit à la croissance des streptocoques non entérocoques (non d'habitat fécale)
- soit le milieu Litsky du test confirmatif est périmé puisque le test présomptif positif confirmé par la coloration de GRAM donne toujours des cellules très caractéristique regroupées en chaînettes.

### III. 4.8 Evolution du nombre *Staphylococcus sp* :

Tableau 18: Evolution du nombre *Staphylococcus sp* ( $\text{nx}10^6$  gr/g de M.F)

lot \ période	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
<b>Témoin</b>	Abs	abs	abs	abs	abs	abs
	Abs	abs	abs	abs	abs	abs
<b>Probiotique</b>	Abs	abs	abs	abs	abs	abs
	Abs	abs	abs	abs	abs	abs

Le tableau 18 représente l'évolution du nombre de *Staphylococcus sp*.

On observe l'absence total de *Staphylococcus sp* que se soit dans le lot témoin ou dans le lot probiotique.. Cela est dû aux conditions convenables pendant la période d'élevage; l'évacuation régulière de la matière fécale et la désinfection par l'eau de javel, l'hygiène quotidienne de l'animalerie et les utiles de l'élevage (abreuvoirs, mangeoires...).

Toutes ces conditions ont permis la protection des poulets contre les contaminations.

III.5 Evolution du nombre de *Lactobacillus* après l'abattage :

Tableau 19: Nombre de lactobacilles sur M17 et MRS après l'abattage  
(n x 10<sup>19</sup> gr/5ml de bouillon nutritif)

	M <sub>17</sub>	MRS
Jabot	10	149
Gésier	2	97
Duodénum	1	48

D'après le tableau ci-dessus on observe une diminution du nombre des *Lactobacillus* dans les compartiments du tube digestif du Jabot vers Duodénum en passant par le Gésier.

Selon plusieurs auteurs le Jabot des volailles contient essentiellement des *Lactobacillus* qui produisent de grandes quantités d'acides organiques, principalement : l'acide lactique et acétique. De ce fait, le pH du Jabot est très bas (de l'ordre de 4 – 5) et empêche le développement des micro-organismes non acidotolérants tel que *Salmonella* et *E. coli*.

Les travaux de FULLER et TURVEY (1971) ont montré que de nombreux *Lactobacillus* adhèrent aux cellules épithéliales du Jabot. l'établissement de ces souches de *Lactobacillus* commence dès le jour de l'éclosion des œufs, se poursuit tout au long de la vie du poulet et n'est pas affecté par les variations importantes du régime alimentaire ; ceci suggère une implantation stable de ces bactéries.

Alors que dans le Gésier, le pH est très bas (1 – 2) et la survie des micro-organismes dépend essentiellement a résister à l'acidité.

Enfin, la multiplication microbienne dans le Duodénum est très faible a cause du transit important des nutriments [8].

En conclusion nos résultats sont confirmés par une coloration de GRAM et test de catalase.



Tableau 20 : coloration de GRAM de *Lbp~~34~~34* après l'abattage :

	Jabot	Gésier	Duodénum
<b>GRAM</b>	+	+	+
<b>La forme morphologique</b>	- Bacille (++++) - diplocoque (+) - Coccobacille (+) - coques (rare) - Streptocoques (rare)	- Bacille (++++) - diplocoque (+) - Coccobacille (+) - coques (rare) - Streptocoques (rare)	- Lactobacille (+++) - diplocoques (++) - Coccobacille (++) - coques (+)
<b>Catalase</b>	-	-	-

Conclusion

Le développement de l'utilisation des probiotiques en alimentation animale nécessite une sélection très rigoureuse des souches les plus performantes ainsi de nombreux essais *in vivo* pour acquérir une bonne connaissance des effets probiotiques et maîtriser parfaitement leur emploi. Mais il est beaucoup plus intéressant avant tous de sélectionner des souches bactériennes capables d'inhiber des germes pathogènes .

Afin de tester l'efficacité probiotique d'une souche de *Lactobacillus plantarum BJ 434* isolée à partir du beurre traditionnel de la région de Jijel .On a étudié les interactions *in vitro* de cette souche avec quelque germes réputés pathogènes (*Salmonella*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Streptococcus*) et une étude des interaction *in vivo* entre la souche *Lb plantarum BJ434* et la flore endogène du poulet.

Nos résultats mettent en évidence une activité antagoniste (mesurée *in vitro*) vis-à-vis des germes précédemment citées.

Les mécanismes impliqués dans les effets bénéfiques de cette souches serait peut être, selon plusieurs auteurs, la suppression des germes pathogènes par production d'acides organiques (acide lactique et acétique) de peroxyde d'hydrogène ou par compétition pour les nutriments.

En ce qui concerne l'interaction *in vivo* nos résultats montrent que la souche testée exerce un effet régulateur de la flore endogène intestinale et un effet antagoniste (anti-bactérien) vis-à-vis des CTT et CT. Mais il apparaît abusif de conclure par la simple étude que cette souche de *Lb plantarum BJ 434* est aussi efficace en aviculture.

Donc afin que l'étude soit complète nous proposons d'autres expériences *in vitro* et surtout *in vivo* et de compléter l'étude microbiologie par une étude zootechnique non testée au cours de notre étude.

Aussi il est préférable de confirmer l'effet antagoniste de cette bactérie lactique vis-à-vis des genres pathogènes testé au cours de notre étude *in vitro* par d'autres expériences *in vivo* où on inocule l'animal par des germes pathogènes et testés l'efficacité du probiotique dans la prévention des maladies.

# Références Bibliographiques

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- 1-AMIOUR.M, BOU FERRAD.N, ZEMMOURI.A,2002, Effets de deux doses d'un probiotique *Lb plantarum* " BJ0021" sur les performances zootechniques et la flore endogènes du poulet de chair , mémoire fin d'étude :p08,09.
- 2-BOUNNAH.F,BEN KOUTEN.N, BOULAHDOU.R,2002, Contrôle de la qualité physico-chimique de l'aliment du poulet de chair, mémoire fin d'étude: p02.
- 3-BOURGEOIS .C.M,LARPENT.J.P,1988, Microbiologie alimentaire. Ed Lavoisier Tec et Doc. p 21,294.
- 4-BOUSELEM.H , 2002,cours de vétérinaire. Office des Publication Universitaire. p01,02..
- 5-DANONE NUTRITOPIC 2004, Cuniculture N°29 ,p2,7,8.
- 6- FULLER R., TURVEY A, 1997, Bactéria associated with intestinal wall of the fowl.J oural of Applied Bacteriology.34,617-622.Cuniculture n°13, p20.
- 8-GOURNIER C., N. , LARPENT J.P, CASTELLANOS M.I, LARPENT. J.L, 1994. Les probiotiques en alimentation humaine et animale. LAVOISIER Tec et Doc .p13,23,24,94,183.
- 9-GUIRAUD.J.P , 1998,.Microbiologie alimentaire, Ed DUNOD (Paris),p:91,92.
- 10- JUVEN B.J., MERNERSMAN R.J., Stern N. J., 1991. Antagonistic effets of *Lactobacillus* and *Pediococcus* to control intestinal colonisation by humain entero-pathogènes in live poultry. Journal of Applied Bactériology.
- 11-LARABA.A, 1982 Production de la viande des volailles "aspect hygiénique" mémoire de fin d'etude,p10.
- 12-LARBIER M, LE CLERC, 1990. Nutrition et alimentation des volailles, p27
- 13-LARPENT J.P, LARPENT.M.G.I, 1997. Memento technique de microbiologie. Ed Lavoisier Tec et Doc, p547,548,553,55
- 14- MARTEAU P, SEKSIK P., 2004. Probiotique et alicaments. Paris, p1,36.

15-MOREAU M,Ch 2001. les probiotiques : des microorganismes bénéfiques pour notre système immunitaire. Ed INRA n° 63.

16-RIGAUD D., 2004. L'intestin : un prodige d'adaptation et de coopération. Ed Vigot (Paris)

17 - RYCHEN.G, SIMOES N.C., 1995. Effets des flores lactiques des produits laitiers fermentés : base scientifique pour l'études des probiotiques microbiens dans espèce porcine. Ed INRA Prod. Anm., 8 (2), p 97, 104.

18-SHOURAQUE.J.P, 2004, Facteur influençant l'implantation de la flore intestinale chez le nourrisson, gastro –entérologie et nutrition pédiatrique.

19-SUTRA L., FEDERIGHI M., JOUVE J.L., 1998. Manuel de bactériologie alimentaire, Ed Polytechnica, p235,236,237.

**Sites Internet:**

20-Anonyme:[www.poulet.fr](http://www.poulet.fr) p10.

Annexes



### Violet de Gentiane:

- violet de gentiane 1 g.
- Ethanol à 90% 10 ml
- Phénol 2g
- Eau distillée 100 ml.

### Fuschine de Ziel:

- fushine basique 1g.
- Alcool éthylique à 90% 10 ml.
- Phénol 5g.
- Eau distillée 100 ml.

### Lugol:

- Iode 1g.
- Iodure de potassium 2g.
- Eau distillée 300 ml.

### Bleu de méthylène:

- bleu de méthylène 1g.
- éthanol a 90% 10 ml.
- Phénol 2 g.
- Eau distillée 300 ml.

### Reactifs Urée – Indole

- L-Tryptophane 03 g
- Phosphate monopoyassique 01 g
- Phosphate dipotassique 01 g
- Chlorure de sodium 05 g
- Urée 20 g
- Alcool à 95° 10 ml
- Solution de rouge de phénol à 1% 2,5 ml
- Eau distillée 1000 ml
- pH = 6,7

### Réactifs de Kovacs :

- Alcool amylique ou isoamylique 150 ml
- P. diméthylaminobenzaldéhyde 10 g
- Acide chlorhydrique concentré 50g

### Reactif de Voges Prosquawer (Vp) :

- Vp1 :
- KOH 40 g
- Eau distillée 100 ml
- Vp2 :
- Naphtol 60 g
- Ethanol 100 ml

### Milieux de cultures :

#### Gélose nutritive ordinaire :

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

#### Gélose Hektoen :

- Proteose – peptone 12 g
- Extrait de levure 03 g
- Chlorure de sodium 05 g
- Thiosulfate de sodium 05 g
- Sels biliaires 09g
- Citrate de fer ammoniacal 1,5 g
- Salicine 02 g
- Lactose 12 g
- Saccharose 12 g
- Fushine acide 0,1 g
- Bleu de bromothymol 65 mg
- Gélose 13 mg

**Milieu de Rothe simple :**

• Peptone	20 g
• Glucose	05 g
• Azide	0,2 g
• Chlorure de sodium	05 g
• $K_2HPO_4$	2,7 g
• $KH_2PO_4$	2,7 g
• pH = 6,8	
• Eau	1 dm <sup>3</sup>

**Milieu de rothe concentré :**

• Peptone	40 g
• Glucose	10 g
• Azide	0,4 g
• Chlorure de sodium	10 g
• $K_2HPO_4$	5,4 g
• $KH_2PO_4$	5,4 g
• Eau	1 dm <sup>3</sup>
• pH = 6,8	

**Milieu de litsky :**

• Peptone	20 g
• Glucose	05 g
• Azide	0,2 g
• Ethyl-violet	0,5 g
• Chlorure de sodium	05 g
• $K_2HPO_4$	2,7 g
• $KH_2PO_4$	2,7 g
• Eau	1 dm <sup>3</sup>
• pH = 6,8	

### Mannitol mobilité

- Peptone 20g
- Nitrate de potassium 01g
- Mannitol 02g
- Rouge de phénol 40g
- Gélose 04g

### Milieu TSI:

- Peptone 20g
- Extrait de viande 03g
- Extrait de levure 03g
- Chlorure de sodium 05g
- Glucose 01g
- Lactose 10g
- Saccharose 0.5g
- Hyposulfite de sodium 0.5g
- Rouge de phénol 28mg
- Gélose 12g

### Citrate de Simmons:

- Sulfate de magnésium 0.2g
- Sulfate de sodium 2g
- Chlorure de sodium 5ml
- Phosphate d'ammonium 0.2g
- Phosphate d'ammonium monosodique 0.8g
- Bleu de bromothymol 0.08g
- Agar 15g

### Clarks et Lubs

- Peptone 10g
- Phosphate dipotassium 02g
- Glucose 05g
- pH 7

autoclaver 20mn à 120° C

### Eau peptonée tamponnée :

- Peptone 20g
- Chlorure de sodium 05g
- Phosphate disodique 09g
- Phosphate monopotassique 1,5g
- pH= 7.2

autoclver 30 mn à 115 °C

### Eau physiologique:

- Chlorure de sodium 8,5 g
- Eau distillée 1000 ml

### ODC

- Ornithine 05g
- Extrait de viande 03g
- Chlorure de sodium 05g
- Glucose 01g
- Pourpre de bromocresol 16mg

### ADH

- L'arginine 05g
- Extrait de levure 03g
- Chlorure de sodium 05g
- Glucose 01g
- Pourpre de bromo crésol 16mg

**LDH:**

• Lysine	05g
• Extrait de levure	03g
• Chlorure de sodium	05g
• Glucose	01g
• Pourpre de bromo cresol	16mg

**Milieu M<sub>17</sub>:**

• Peptone trypsine de caséine	2.5g
• Peptone pepsine de viande	2.5g
• Peptone papainique de soja	05g
• Extrait de viande	05g
• Extrait de levure deshydraté	2.5g
• Glycérophosphate de sodium	19g
• Sulfate de magnésium, 7H <sub>2</sub> O	0.25g
• Acide ascorbique	0.5g
• Agar	08 à 18 g
• Eau	950 ml

**Milieu MRS :**

• Peptone	10g
• Extrait de viande	08g
• Extrait de levure	04g
• Acétate de sodium	05g
• Phosphate bipotassique	02g
• Citrate d'ammonium	02g
• Sulfate de magnésium 7H <sub>2</sub> O	0.2g
• Sulfate de manganèse 4H <sub>2</sub> O	0.05g
• Glucose	20g
• Tween 80	01 ml
• Eau distillée qsp	100 ml
• pH = 6,2	

<b>Réalisé par :</b> ❖ MALLEM Wafa ❖ DIFFELLAH Amel ❖ MAZAR Meriem	<b>Date de soutenance : 29/09/2004</b> Heure : 14 :30 Amphi : Salle de lecture
<b>Thème :</b> <b>Effet d'un probiotique <i>Lactobacillus plantarum</i> BJ 434 sur la flore endogène du poulet de chair</b>	
<p style="text-align: center;"><b>Résumé</b></p> <p>Cette étude est menée pour évaluer l'intérêt d'une éventuelle utilisation d'une souche <i>Lb plantarum</i> BJ 434 comme probiotique chez le poulet de chair. Ceci par une étude des interactions <i>in vitro</i> entre la souche <i>Lb plantarum</i> BJ 434 et certains germes indésirables: <i>Salmonella</i>, <i>E.coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>..... et des interactions <i>in vivo</i> avec la flore endogène.</p> <p>L'étude des interactions <i>in vitro</i> montre que la souche <i>Lb plantarum</i> BJ 434 exerce un effet antagoniste vis-à-vis des <i>Salmonelles</i>, <i>staphylococcus</i>, <i>E.coli</i> ....</p> <p>Les interactions <i>in vivo</i> montre que <i>Lb plantarum</i> BJ 434 à un effet régulateur de la flore endogène et un effet antagoniste vis a vis des CT et CTT.</p> <p>Cependant, on peut dire que la souche <i>Lb plantarum</i> BJ 434 testée au cours de notre étude est efficace mais reste à confirmer par d'autres expériences <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>.</p> <p><b>Mots clé:</b> probiotique, <i>Lb plantarum</i> BJ 434, poulet de chair, microflore digestive.</p>	
<p style="text-align: center;"><b>Summary</b></p> <p>This survey is led by estimated the interest of a possible use of an original <i>Lb plantarum</i> BJ 434 as probiotique at the chicken of flesh. This by a survey of the <i>in vitro</i> interactions between the original <i>Lb plantarum</i> BJ 434 and some germs indésirables: <i>Salmonella</i>, <i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>..... and of the interactions <i>in vivo</i> with the endogenous flora .</p> <p>The survey of the interaction <i>in vitro</i> shows that the original <i>Lb plantarum</i> BJ 434 exercises an antagonistic effect opposite the <i>Salmonelles</i>, <i>staphylococcus</i>, <i>E.coli</i> ....  <i>In vivo</i> shows some interactions that <i>Lb plantarum</i> BJ 434 to a regulating effect of the endogenous flora and an effect antagonistic screw has screw of the CTe and CTT .</p> <p>However, can tell to some that the original <i>Lb plantarum</i> BJ 434 tested during our survey is efficient but remains has confirm by other <i>in vitro</i> experiences and <i>in vivo</i>.</p> <p><b>Words key:</b> probiotique, <i>Lb plantarum</i> BJ 434, chicken of flesh, digestive microflore</p>	
<p style="text-align: center;"><b>ملخص</b></p> <p>هذه الدراسة أجريت لتقدير مدى أهمية استعمال العينة <i>Lb plantarum</i> BJ 434 على شكل probiotique عند الدجاج. عن طريق دراسة التداخلات في أنابيب الاختبار بين العينة <i>Lb plantarum</i> BJ 434 و مختلف البكتيريا غير المرغوبة: <i>Salmonella</i>, <i>E.Coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>...., و كذلك لدراسة التداخلات في الوسط الحي مع البكتيريا الخطيرة.</p> <p>دراسة التداخلات في أنابيب الاختبار أثبتت أن العينة <i>Lb plantarum</i> BJ 434 لها عمل معاكس بالمقابل مع <i>Salmonelles</i>, <i>staphylococcus</i>, <i>E.Coli</i> ....</p> <p>التداخلات في الوسط الحي أثبتت أن البكتيريا <i>Lb plantarum</i> BJ 434 تعمل كمنظم لبكتيريا داخلية و لديها أيضا عمل معاكس ضد CT و CTT.</p> <p>غير أننا نستطيع القول أن <i>Lb plantarum</i> BJ 434 التي اختبرت خلال عملنا فعالة، لكن يجب التأكد عن طريق تجارب أخرى في المخبر و في الوسط الحي.</p> <p><b>كلمات مفتاحية:</b> probiotique, <i>Lb plantarum</i>, BJ 434، دجاج، البكتيريا الهضمية.</p>	