

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -
Université Mohammed Seddik Ben Yahia -Jijel-
جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Microbiologie Appliquée et
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

Mémoire de Fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Mise en place d'une collection de souches probiotiques
à partir du tractus digestif de la caille et évaluation de leurs aptitudes

Membres de Jury :

Présidente : Dr. S. ALIOUA

Examinatrice : Dr. A. AIT MEDDOUR

Encadrant : Dr. MT. BOUBEZARI

Présenté par :

M^{elle}: Sara HAMDINI

M^{elle}: Inas KHEDDACHE

M^{elle}: Nour el houda ZITOUNI



Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :



Remerciements



Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements à Allah, le tout puissant, de nous avoir donné de la force, la patience, le courage et la volonté à surmonter toutes les difficultés afin d'accomplir ce modeste travail.

Notre première pensée va tout naturellement à notre encadrant DR, Boubezari non seulement pour avoir accepté l'encadrement de ce travail, mais aussi pour sa confiance, ses conseils et sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.

On tient particulièrement à remercier les membres du jury Dr. Souad ALIOUA et Dr. Amel AIT

MEDDOUR d'avoir accepté de juger ce travail.

Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

À vous tous, un grand Merci.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers parents que dieu les protège pour tous les sacrifices et leur soutien tout au long de mon parcours
d'études.*

*A ma chère sœur Nada, qui a été toujours présente à mes côtés. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de
fraternité et d'amour.*

*A mes copines Meryem, Kaouthaer et Rania, merci de m'avoir remonté le moral, encouragé et soutenu pendant
plusieurs années, j'ai vraiment des copines en or.*

*A mes binômes Sara et Ines qui ont partagées avec moi tous les merveilleux moments pendant la réalisation de ce
travail.*

Un énorme merci à toutes les personnes qui m'ont aidé à réaliser ce travail

Nour el houda



Dédicace

Je remercie Dieu le tout Puissant, qui m'aider et m'a donné la force, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce mémoire :

À mes chers parents, ma mère qui m'as toujours encouragé nuit et jour et prier pour moi pendant toute mes études universitaire et scolaire ainsi que mon père qui m'a toujours aidé et guider et me pousser pour être toujours la meilleure et la brillante.

À mon cher frère Ali, mes chères sœurs Housna, Aya sofia, Maria pour leur amour, tendresse et leur soutien continu.

À mes proches amies Imane, Safia, Samira.

À mes binômes Inas et Nour el houda dont ont partagée des moments très difficiles lors de la réalisation de ce travail.

À tout ce qui m'ont apportée de l'aide de près ou de loin.

Sara



Dédicace

Je remercie Dieu le tout Puissant, qui m'aider et m'a donné la force, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui m'ont guidé durant toutes mes années d'étude vers le chemin de la réussite.

A mes sœurs Ibtissam et Latifa, mes frères Rabah, Latife et ma copine Samira, présent dans tous mes moments pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes binômes Sara et nour el houda, qui ont partagé avec moi tous les moments difficiles pour réaliser ce travail.

A toutes ceux que j'aime et qui je respecte.

INAS



| | |
|----------------------|---|
| Liste d'abréviations | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Introduction | 1 |

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Caille

| | |
|-------------------------------------|---|
| 1.1. Généralité..... | 2 |
| 1.2. Modèle d'étude | 2 |
| 1.2.1. Caille japonaise | 3 |
| 1.2.2. Position systématique..... | 3 |
| 1.3. Anatomie du tube digestif..... | 4 |
| 1.3.1. Bec | 4 |
| 1.3.2. L'œsophage et le jabot | 5 |
| 1.3.3. L'estomac | 5 |
| 1.3.4. L'intestin grêle..... | 5 |
| 1.3.5. Le gros intestin | 5 |
| 1.3.6. Les caeca | 5 |
| 1.3.7. Le cloaque | 6 |
| 1.3.8. Les glandes annexes..... | 6 |

Chapitre 2 : Microflore intestinale de la caille

| | |
|--|----|
| 2.1. Composition de la microflore intestinale de la caille japonaise | 7 |
| 2.2. Les facteurs influençant ont la microflore intestinale | 9 |
| 2.2.1. Age, sexe et race..... | 9 |
| 2.2.2. Climat et situation géographique..... | 10 |
| 2.2.3. Type et qualité de la litière | 10 |
| 2.2.4. Composition et structure des aliments et additifs alimentaire..... | 10 |
| 2.2.5. Antibiotique..... | 11 |
| 2.2.6. Migration et interactions sociales | 11 |
| 2.3. Le rôle de la microflore intestinale chez les volailles | 12 |
| 2.3.1. Digestion | 12 |
| 2.3.2. Fonction immunitaire..... | 13 |
| 2.3.3. Détoxification | 13 |
| 2.3.4. Impact sur la physiologie et la morphologie digestive | 14 |

Chapitre 3 : Probiotiques

| | |
|---|----|
| 3.1. Historique et Définition..... | 15 |
| 3.2. Critères de sélection des probiotiques | 15 |
| 3.3. Les microorganismes probiotiques | 17 |
| 3.4. Mécanismes d'action des probiotiques..... | 17 |
| 3.4.1. Exclusion compétitive des microorganismes pathogènes..... | 18 |
| 3.4.2. Production de substances antimicrobiennes..... | 18 |
| 3.4.3. Augmentation de l'adhésion à la muqueuse intestinale et amélioration de la barrière épithéliale..... | 19 |
| 3.4.4. Modulation du système immunitaire | 19 |
| 3.4.5. Interférence avec les signaux de détection du quorum..... | 19 |

Etude expérimentale

| | |
|---|----|
| 1. Matériel biologique | 21 |
| 2. Méthodes expérimentales | 21 |
| 2.1. L'abattage du caillé et prélèvement des échantillons | 21 |
| 2.2. Préparation des échantillons..... | 22 |
| 2.3. Isolement et purification des souches des bactéries lactiques | 22 |
| 2.4. Conservation à long terme | 23 |
| 2.5 Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des souches in vitro :..... | 23 |
| 2.5.1. Tolérance aux sels biliaires | 23 |
| 2.5.2. Tolérance aux acides..... | 24 |
| 2.5.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques | 24 |
| 2.5.4. Etude de l'activité antibactérienne..... | 24 |
| 2.5.5. Etude de l'hydrophobicité..... | 25 |
| 2.5.6. Etude de l'aptitude à l'autoagrégation et à la coagrégation..... | 26 |
| 2.5.7. Etude d'adhésion aux cellules épithéliales..... | 26 |
| 2.6. Autres tests..... | 27 |
| 2.6.1. Tolérance aux phénols | 27 |
| 2.6.2. Etude de la résistance à la toxicité du peroxyde d'hydrogène | 28 |

Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| 1.1. Isolement et purification des souches des bactéries lactiques | 29 |
| 1.2. Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des souches in vitro | 31 |
| 1.2.1. Tolérance aux sels biliaires | 31 |
| 1.2.2. Tolérance aux acides..... | 32 |

| | |
|---|----|
| 1.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques | 34 |
| 1.2.4. Etude de l'activité antibactérienne..... | 36 |
| 1.2.5. Etude de l'hydrophobicité..... | 38 |
| 1.2.6. Etude de l'aptitude à l'autoagrégation et à l'coagrégation..... | 40 |
| 1.2.7. Etude d'adhésion aux cellules épithéliales..... | 42 |
| 1.3. Autres tests | 44 |
| 1.3.1. Tolérance aux phénols | 44 |
| 1.3.2. Etude de la résistance à la toxicité du peroxyde d'hydrogène | 45 |
| Conclusion..... | 47 |
| Références bibliographique | 48 |
| Annexes | |
| Résumé | |

Abs : absorbance

AGCC : Acides gras à chaîne courte

ATP : Adénosine triphosphate

BSH : Hydrolase du sel biliaire

DZI : Les diamètres des zones d'inhibition

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

GIT: Tractus Gastro-Intestinal

GRAS: Generally Recognized As Safe

IA : Autocapteur

IgA : Immunoglobulines A

J : jabot

MRS: Man Rogosa et Sharpe

NAD: Nicotinamide Adenine Dinucleotide

NADH: Reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide.

nm : nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PBS : Phosphate Buffered Saline

QS : Quorum sensing

Tr/min : Tour/minute

U/ml : Unite/ millilitre

| | |
|--|----|
| Tableau I. Classification de la caille japonaise (<i>Coturnix japonica</i>)..... | 3 |
| Tableau II. Principaux critères de sélection des probiotiques..... | 16 |
| Tableau III. Quelques espèces contribuées au vaste groupe de micro-organismes probiotiques | 17 |
| Tableau IV. Résultats des tests utilisés pour la purification des isolats. | 30 |
| Tableau V. Résultats de la résistance des souches isolées aux antibiotiques. | 34 |
| Tableau VI. Résultats de test des puits de l'activité antibactérienne des isolats lactiques. | 37 |

| | |
|--|----|
| Figure 1. Caille japonaise adulte. (a) Femelle avec des plumes de poitrines brun moucheté. (b) Male avec des plumes de poitrines brun cannelle..... | 3 |
| Figure 2. Schéma du tractus digestif des volailles et valeurs des pH des contenus digestifs.. | 4 |
| Figure 3. Diagramme à barres montrant les ordres les plus abondants (>1% de lecrures) dans les sections de la TIG de la caille japonaise. M et F, respectivement. | 9 |
| Figure 4. Mécanismes d'action des probiotiques. | 18 |
| Figure 5. la caille après la dissection. Figure 6. Les organes prélevés de caille. | 22 |
| Figure 7. Observation macroscopique des isolats. | 29 |
| Figure 8. Photomicrographie des souches isolées après fixation (coloration de Gram) (Gx100) | 30 |
| Figure 9. Résultats du test de catalase sur lame (exemple de réaction positive reflétée par la formation de bulles). | 30 |
| Figure 10. Pourcentage de survie des isolats en présence de 0.3% de sels biliaires. | 32 |
| Figure 11. Taux de survie des isolats sur un milieu au PH acide (PH =2.5). | 33 |
| Figure 12. Résistance des isolats (J18, I7, I9, J13) aux antibiotiques (ampicilline, tétracycline, streptomycine). | 36 |
| Figure 13. Photos de l'activité antimicrobienne des isolats vis-à-vis de staphylococcus aureus ATCC 25923 (A et B), de Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (C et D), et de Escherichia coli ATCC 25922, (E et F) par la méthode de diffusion des puits. | 38 |
| Figure 14. Pourcentage d'hydrophobicité des isolats. | 40 |
| Figure 15. Photomicrographie de l'auto-agrégation d'une souche isolée J18. | 41 |
| Figure 16. Pourcentages d'Autoagrégation des isolats. | 42 |
| Figure 17. Pourcentage de co-agrégation des isolats avec une souche pathogène. | 42 |
| Figure 18. Co-agrégation des souches isolées. | 43 |
| Figure 19. Adhésion des isolats aux cellules épithéliales (Gx100). | 44 |
| Figure 20. Pourcentage de survie des isolats dans 0.4% du phénol. | 45 |
| Figure 21. Pourcentage de survie des isolats en présence de 0.7% de peroxyde d'hydrogène. | 46 |



Introduction


Le tractus gastro-intestinal (GIT) des animaux, y compris les oiseaux, est l'un des écosystèmes microbiens les plus compliqué contenant des milliards de micro-organismes. Ces micro-organismes sont répartis dans différentes niches écologiques et remplissent différentes fonctions **(Mir et Lone, 2018)**.

De nombreux facteurs peuvent affecter l'écosystème microbien intestinal, notamment les additifs alimentaires, régime alimentaire, la génétique, le stress thermique, la façon dont les élevages de volailles sont élevés, etc. Ces facteurs ont un impact considérable sur le microbiote intestinal et la santé des volailles **(Ali et al., 2021)**.

Le microbiote gastro-intestinal joue un rôle important dans la digestion, la détoxification de certains composants, l'amélioration des performances de croissance et la protection contre les infections **(Souza et al., 2007)**. Ces souches microbiennes bénéfiques, communément connues sous le nom de probiotiques, sont définies comme "micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes, confèrent un avantage pour la santé à l'hôte" **(Reuben et al., 2019)**.

Selon la FAO et l'OMS, les probiotiques se caractérisent par : des effets bénéfiques, la non-pathogénicité, la capacité de survivre dans le tractus gastro-intestinal, la résistance aux enzymes digestives des cavités buccales et gastriques, la résistance aux pH acides de l'estomac, aux sels biliaires et avoir éventuellement la capacité d'adhésion sans perturber la flore intestinale normale et la capacité d'interagir avec les cellules immunitaires intestinales **(Mureşan et al., 2018)**. Ces probiotiques ont de multiples effets en présence de substances appelées prébiotiques **(Anandharaj et al., 2014)**. Les probiotiques sont principalement des bactéries gram-positives, mais il existe également des bactéries gram-négatifs, des levures et des champignons **(Anee et al., 2021)**.

Notre étude est principalement axée sur les points suivants : l'isolement et la purification des souches de bactéries lactiques à partir du tube digestif de la caille japonaise (*C. coturnix japonica*), et évaluation de quelques aptitudes probiotiques des isolats.



Synthèse
bibliographique



Chapitre 1 :

1.1. Généralité

Les cailles sont des oiseaux trapus qui sont physiquement proches des perdrix. Ils se caractérisent par leurs petite taille et tête munie d'un bec court et robuste, un cou moyennement développé, des ailes fortes et courtes, un plumage varié et des pattes courtes, finalement le corps se termine par une petite queue (Menassé et Milani, 2004 ; Mondry, 2016).

La caille est une espèce d'oiseau de la famille des faisans. On pense que la caille a été domestiquée pour la première fois au Japon au XI^e siècle (Baykalir et Aslan, 2020). Il existe 20 espèces et souches de cailles sauvages et environ 70 espèces de cailles domestiques, y compris les cailles de laboratoire et les cailles commerciales (Kadraoui et al., 2020). Après domestication, l'oiseau a été élevé comme animal de compagnie (oiseau chanteur). Au début du XX^e siècle, la caille était utilisée pour produire des œufs et de la viande. Il existe deux types de cailles qui conviennent à l'élevage, citons la caille japonaise (*C. coturnix japonica*) et la caille américaine ou la caille commune (*C. coturnix*) (Nasar et al, 2016 ; Baykalir et Aslan, 2020).

1.2. Modèle d'étude

1.2.1. Caille japonaise

La caille japonaise, est une espèce indigène terrestre qui habite les zones herbeuses du Japon, de la Chine et de la Corée (Baer et al., 2015 ; Borda-Molina et al., 2020). Elle est la plus petite espèce aviaire d'élevage (Ali et al., 2021), d'une longueur environ 17 cm (Baer et al., 2015), son plumage est gris moucheté et tacheté de brun (Mondry, 2016). Le poids des adultes varie entre 150 et 250 g (Poynter et al., 2009). Les femelles sont un peu plus grosses que les mâles et ont la gorge plus claire avec des taches noires. Les mâles ont une gorge plus foncée, brun caramel (Figure 1) (Mondry, 2016).

Elle est caractérisée par une croissance rapide, une maturité sexuelle précoce, un court intervalle de génération, une forte ponte et des exigences (en alimentation et en espace, en médicaments et en vaccins) moins importantes par rapport aux autres espèces de volailles (Kadraoui et al., 2020 ; Marie-Claire et al., 2022). En raison de ces caractéristiques uniques et de certaines physiologiques avec l'homme, la caille japonaise est reconnue comme un modèle de laboratoire idéal pour la recherche scientifique (Hosseini et al., 2017).

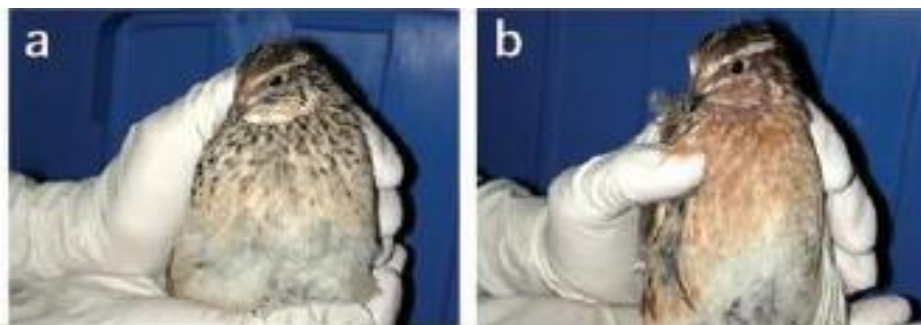


Figure 1. Caille japonaise adulte. (a) Femelle avec des plumes de poitrines brun moucheté. (b) Male avec des plumes de poitrines brun cannelle (baer et al., 2015).

1.2.2. Position systématique

La caille japonaise était considérée comme une sous espèce de la caille commune (*Coturnix coturnix coturnix*) et a été désignée comme *Coturnix coturnix japonica* (Westmore, 1952).

Ce n'est qu'en 1990 que les chercheurs ont effectivement classé la caille japonaise, qui est devenue une espèce autonome, actuellement connue sous le nom de *Coturnix japonica*. (Crawford, 1990).

Tableau I. Classification de la caille japonaise (*Coturnix japonica*). (Crawford, 1990).

| | |
|----------------------|--------------------------|
| Règne | Animalia |
| Embranchement | Chordata |
| Classe | Aves |
| Ordre | <i>Galliformes</i> |
| S/Ordre | <i>Gallinacés</i> |
| Famille | <i>Phasianidea</i> |
| S/Famille | <i>Perdicinae</i> |
| Genre | <i>Coturnix</i> |
| Espèce | <i>Coturnix japonica</i> |

1.3. Anatomie du tube digestif

Les gallinacées (poules) et les galliformes (dindes, pintades, faisans et cailles) ont des systèmes digestifs très similaires (Larbier et Leclercq, 1992) (Figure 2). Il est constitué d'un

ensemble d'organes qui assurent la préhension, le transport, la digestion et l'excrétion d'aliments en vue de leur assimilation (Alamargot, 1982).

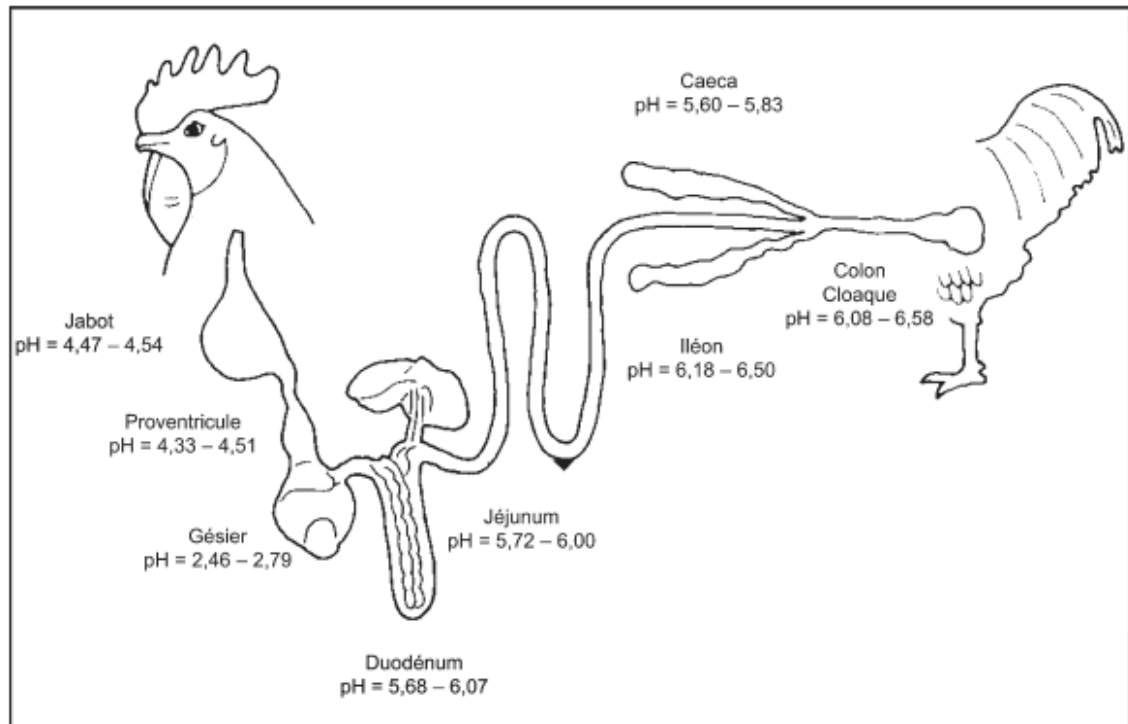


Figure 2. Schéma du tractus digestif des volailles et valeurs des pH des contenus digestifs. (Gabriel *et al.*, 2005).

Le tube digestif de la caille est composé des organes suivants :

1.3.1. Bec

L'appareil digestif débute par un bec qui permet la préhension de l'aliment et une fragmentation sommaire (Cano *et al.*, 2012 ; Brachet *et al.*, 2018), il se compose de deux parties : dorsalement la maxille ou mandibule supérieure et ventralement la mandibule ou mandibule inférieure (Alamargot, 1982).

L'aliment ingéré ne subit aucune mastication, il est suffisamment lubrifié par le suc salivaire facilitant ainsi son passage dans l'œsophage (Dusart, 2015).

1.3.2. Œsophage et le jabot

L'œsophage est un organe tubuliforme musculo-muqueux à paroi mince qui s'étend du pharynx au gésier et situé derrière de la trachée (Alamargot, 1982 ; Hena *et al.*, 2012). Il est

composé de trois parties distinctes : une partie thoracique et le jabot, une partie cervicale qui est considérablement plus grande que la partie thoracique (**Hena et al., 2012**).

Le jabot est un renflement de l'œsophage placé entre les clavicules, servant au stockage de la nourriture, permettant ainsi une digestion continue tout en espaçant ses prises alimentaires (**Hena et al., 2012 ; Brachet et al., 2018**).

1.3.3. Estomac

L'estomac d'une caille se compose de deux parties distinctes (**Hena et al., 2012**) : une partie glandulaire connue sous le nom de proventricule ou estomac sécrétoire qui produit de l'acide chlorhydrique et des enzymes pour digérer les constituants alimentaires (**Guérin et al., 2012 ; Brachet et al., 2018**), et une partie musculaire, le gésier ou l'estomac broyeur qui broie les aliments par l'effet meule permis par sa puissance musculaire (**Guérin et al., 2012**).

1.3.4. Intestin grêle

Début à partie de sortie du gésier et se débouche dans le côlon (ou gros intestin) (**Guérin et al., 2012 ; Wilkinson et al., 2018**), il est généralement divisé en trois segments sans différences structurelles évidentes : le duodénum, le jéjunum et l'iléon (**Hena et al., 2012**). Sous l'action du suc gastrique, du suc pancréatique et des sels biliaires, il assure la digestion chimique et l'absorption des nutriments (**Brachet et al., 2018**).

1.3.5. Gros intestin

Le gros intestin de la caille est court, commençant dans l'iléon et se terminant dans le cloaque, et constitué d'une paire de cæcum et de côlon ou rectum (**Hena et al., 2012 ; Guérin et al., 2012**), il joue un rôle dans la réabsorption d'eau (**Brachet et al., 2018**).

1.3.6. Caeca

Le caecum (ou caecum) sont deux poches aveugles reliées sous forme de doigts à la jonction iléon-côlon, en formant deux structures symétriques qui ressemblent beaucoup à un simple prolongement latéral de l'intestin (**Guérin et al., 2012 ; Hena et al., 2012 ; Wilkinson et al., 2018**). Chez la caille, ils sont très gros et longs par rapport à d'autres gallinacés tels que le pigeon (**Hena et al., 2012**).

1.3.7. Cloaque

Le cloaque est la partie terminale de l'intestin où se rejoignent les voies digestives, urinaires et génitales. Physiologiquement, il est divisé en trois compartiments séparés par deux plis transversaux plus ou moins nets : le coprodeum, l'urodeum et le proctodeum. (**Alamargot, 1982 ; Cano *et al.*, 2012**).

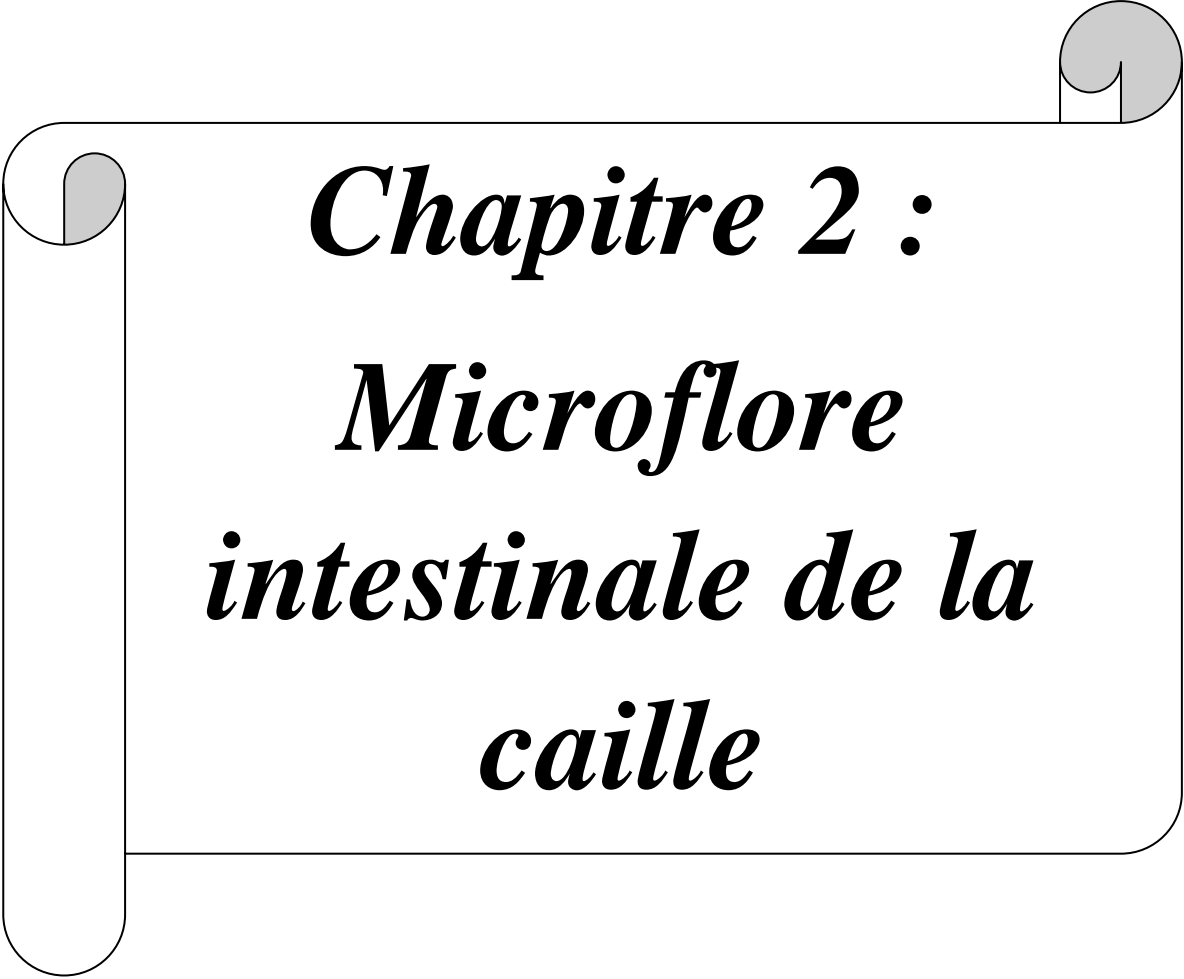
1.3.8. Glandes annexes

1.3.8.1. Foie

Le foie est un organe bilobé volumineux rouge sombre situé entre les côtés du cœur et du gésier. C'est la glande la plus massive de tous les viscères. Le foie est constitué de deux lobes reliés par un isthme transversal qui renferme partiellement la veine cave caudale (**Alamargot, 1982**). Il secrète de la bile (qui sert à digérer les graisses) qui est ensuite stockée dans la vésicule biliaire pour digérer les graisses (**Brachet *et al.*, 2018**).

1.3.8.2. Pancréas

Le pancréas est une glande amphibie, compacte, de couleur blanche ou rougeâtre (**Alamargot, 1982**), constituée de trois lobes (dorsal, ventral et rate), chacun possédant son propre canal pancréatique efférent, qui se jette dans le duodénum (**Cano *et al.*, 2012**). Il permet la sécrétion de certaines enzymes (produisant le suc pancréatique) et du bicarbonate, qui neutralisent le mélange acide des aliments provenant des ventricules et offrent un environnement favorable à l'activation des enzymes digestives. (**Brachet *et al.*, 2018**).



Chapitre 2 :
Microflore
intestinale de la
caille

2.1. Composition de la microflore intestinale de la caille japonaise

Une étude a été réalisée sur la caille de Virginie (*Colinus virginianus*) taxonomiquement apparentée à la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) pour étudier le microbiote intestinal cultivable de la caille (Su *et al.*, 2014).

Les phylotypes bactériens de toutes les parties principales du tube digestif de la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*), y compris la bouche, œsophage, jabot, proventricule, gésier, duodénum, iléon, cæcum, le gros intestin et les fèces, ont été découverts pour la première fois en appliquant le séquençage à haut débit du gène ARNr 16S, 9 phylums bactériens ont été trouvés dans le TGI de la caille, mais les phylums *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria* étaient les dominant. Cependant, la distribution des 9 phylums varie considérablement entre les parties TGI. Les *firmicutes* prédominent dans toutes les parties du tube digestif, en particulier dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal, tandis que les *Bacteroidetes* sont plus abondants dans la partie inférieure du tractus gastro-intestinal que dans la partie supérieure du TGI (Figure 3) (Wilkinson *et al.*, 2016).

La microflore intestinale de la caille dans différentes sections de tube digestif se compose :

Bouche

La bouche de la caille se compose de sept phylums principaux *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Tenericutes* et *Verrucomicrobia* et 30 familles et 35 genres, dont 11 sont encore inconnus.

Au niveau des phylums, les *Firmicutes* sont les plus abondantes chez les oiseaux femelles, tandis que les *Proteobacteria* sont les plus dominantes chez les oiseaux mâles. Deux genres, *Lactobacillus* et *Staphylococcus*, sont considérablement variés. La bouche des femelles a des niveaux plus élevés de *Lactobacillus* et les mâles ont des niveaux plus élevés de *Staphylococcus* (Wilkinson *et al.*, 2016).

Œsophage et jabot

L'œsophage de la caille contient 7 phylums, classés par ordre d'abondance : *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Tenericutes*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia* et *Gemmatimonadetes* en quantités infimes. 45 familles sont présentes. Les plus abondantes sont *Lactobacillaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Actinomycetaceae* et *Lachnospiraceae*,

représentant 70% de toutes les bactéries. 68 genres (dont 21 genres inconnus) ont été retrouvés dans le microbiote œsophagien (Wilkinson *et al.*, 2016).

Le jabot contient les neuf phylums détectés dans le TGI de la caille, mais est dominé par les *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria*. Trois genres qui se différencient entre les oiseaux mâles et femelles : *Blautia* et *Coprococcus* de la famille *Lachnospiraceae* et *Lactobacillus*. Les lactobacilles dominent cette partie du TGI (Wilkinson *et al.*, 2016).

Estomac

Il n'y avait pas de différences constantes dans la composition du microbiote du proventricule entre les oiseaux mâles et les oiseaux femelles concernant tous les niveaux phylogénétiques.

Les bactéries de cinq phylums sont présentes dans le gésier de la caille où les *Firmicutes* sont significativement plus élevés chez les femelles. La différence d'abondance des *Firmicutes* est due au genre *Lactobacillus*. Les échantillons mâles sont très abondants en entérobactéries non classées/inconnues.

Le pH de proventricule et du gésier des oiseaux est très bas (2,5-3,5) ce qui conduit à une croissance bactérienne difficile. Certaines bactéries détectées à partir de ces sources peuvent êtreensemencés par des aliments entrant dans le système alimentaire (Wilkinson *et al.*, 2016).

Intestin grêle

Le duodénum de caille a montré une abondance de *Ruminococcaceae* non identifiées chez les oiseaux femelles et d'*Enterobacteriaceae* non identifiés chez les mâles. De fortes différences ont été observées entre les oiseaux mâles et femelles avec 11 genres.

Le duodénum, le jéjunum et l'iléon sont les principaux sites d'absorption des nutriments et sont riches en villosités intestinales. Le duodénum et l'iléon sont abondants dans les genres non classés, et les oiseaux mâles et femelles se différencient largement en abondance (plus élevée chez les mâles). Les lactobacilles sont dominants chez les oiseaux femelles (Wilkinson *et al.*, 2016).

Gros intestin

Les principaux genres trouvés dans le gros intestin sont souvent non classés, suivis de *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Ruminococcus* et *Clostridium*. Bien que les *Lactobacillus* sont dominantes chez les femelles et de *Bacteroides* chez les mâles (ceux-ci n'étaient pas significatifs en raison de la variation d'un oiseau à l'autre) (Wilkinson *et al.*, 2016).

Caeca :

La communauté microbienne cœcale est composée de quatre principaux phylums ; Firmicutes, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et *Tenericutes*, et *Ténéricutes*, et 32 genres. Les familles dominant le cœcum de la caille sont ; les *Bacteroidaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* et *Enterobacteriaceae*. Les *Bacteroides* comme le genre prédominant, suivi de *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Enterococcus*, *Clostridium* etc. Les familles *Lactobacillaceae* et *Catabacteriaceae* varie considérablement entre les oiseaux mâles et femelles (**Wilkinson *et al.*, 2016**).

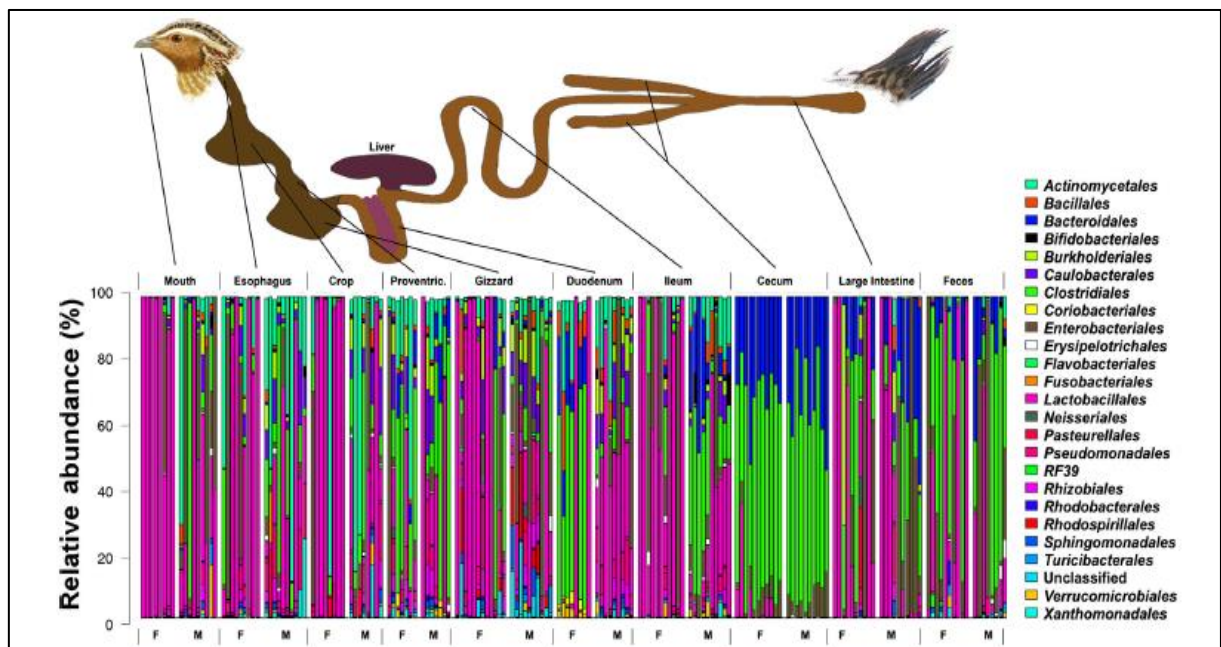


Figure 3. Diagramme à barres montrant les ordres les plus abondants (>1% de lectures) dans les 10 sections de la TIG de la caille japonaise. M et F, respectivement. (**Wilkinson *et al.*, 2016**).

2.2. Les facteurs influençant ont la microflore intestinale

2.2.1. Age sexe et race

La flore digestive variée selon la souche animale et le sexe (**Gabriel *et al.*, 2005**), les mâles et les femelles se diffèrent dans leur physiologie reproductive et leur comportement, ce qui se traduit par des profils microbiens intestinaux différents (**Grond *et al.*, 2018**). Chacun a sa propre communauté microbienne digestive. (**Gabriel *et al.*, 2005**).

À l'éclosion, le tube digestif est stérile. L'implantation de la flore dépend de l'environnement de l'œuf au moment de l'éclosion, qui détermine l'ordre dans lequel les animaux sont exposés aux micro-organismes, leur aptitude à coloniser l'intestin (besoin en nutriments, lieu de développement, l'interaction maternelle) et des interactions entre microorganismes (**Gabriel *et al.*, 2005 ; Grond *et al.*, 2018**).

Globalement, la variation de communauté microbienne digestive évolue avec l'âge de l'oiseau, modifiant ainsi la structure compétitive de l'intestin. (**Feye *et al.*, 2020**).

2.2.2. Climat et situation géographique

La situation géographique affecte le climat régional et saisonnier de l'environnement d'élevage, qui à son tour influe sur la distribution du microbiote intestinal chez les volailles (**Kers *et al.*, 2018 ; Diaz Carrasco *et al.*, 2019**).

Les conditions climatiques externes, en particulier la chaleur extrême, peuvent avoir un impact négatif sur la santé et la productivité des volailles (**Diaz Carrasco *et al.*, 2019**). Lorsque les volailles subissent un stress thermique dû à l'exposition à des températures élevées et à une humidité relativement élevée, des changements dans le contenu iléal étaient plus importants que dans le caecum, suggérant que le microbiote iléal pourrait être plus sensible aux changements que le microbiote du caecum (**Kers *et al.*, 2018**).

2.2.3. Type et qualité de la litière

La litière est généralement composée de copeaux de pin, de coques de riz et d'autres matières végétales, de plumes, de squames, d'aliments, d'eau et des matières fécales compostées et mélangés avec les matériaux de la litière (**Kers *et al.*, 2018 ; Diaz Carrasco *et al.*, 2019 ; Bindari et Gerber, 2022**).

La communauté microbienne intestinale varie également en fonction du matériau de litière, de qualité, de gestion et de type de la litière (**Kers *et al.*, 2018 ; Bindari, et Gerber, 2022**). La charge bactérienne intestinale était plus élevée dans les litières réutilisées et dans la litière humide que dans la litière fraîche et dans la litière sèche. Ainsi que la litière réutilisée, héberge des agents pathogènes provenant du troupeau précédent tandis que la litière fraîche inhibe la croissance de ces pathogènes (**Kers *et al.*, 2018 ; Diaz Carrasco *et al.*, 2019 ; Bindari, et Gerber, 2022**).

2.2.4. Composition et structure des aliments et additifs alimentaire

La flore digestive est directement dépendante de l'alimentation, car cette dernière est l'origine des types de substrats disponibles pour la croissance microbienne (**Gabriel *et al.*, 2005**). La flore digestive peut être modifiée par le type de céréales, notamment la présence de polysaccharides non-amylacés hydrosolubles (**Gabriel *et al.*, 2005**), l'alimentation des volailles avec un régime à base de blé et d'orge au lieu de maïs entraîne une augmentation des populations bactériennes anaérobies facultatives, dont les lactobacilles et les coliformes (**Gabriel *et al.*, 2005 ; Feye *et al.*, 2020**). De même, selon le type des matières grasses, de l'amidon ou des protéines, les minéraux et vitamines (**Gabriel *et al.*, 2005**), ou selon la forme physique de l'alimentation (granulés ou pâtée) (**Bindari, et Gerber, 2022**), la granulation de l'aliment augmente le nombre de coliformes et d'entérocoques dans l'iléon, ainsi, il était démontré que les cæcums des volailles nourris aux granulés présentaient une plus grande quantité d'acides gras volatils totaux, en particulier le butyrate et l'acétate (**Gabriel *et al.*, 2005 ; Feye *et al.*, 2020**).

Différents additifs alimentaires tels que les enzymes, les probiotiques, les prébiotiques et symbiotiques ont été utilisés pour moduler le microbiote intestinal et améliorer le système immunitaire des volailles (**Bindari, et Gerber, 2022**).

2.2.5. Antibiotique

Les antibiotiques sont un outil important pour soutenir la durabilité économique de l'élevage intensif, à la fois pour améliorer l'efficacité alimentaire et pour maintenir la santé des animaux en prévenant et/ou en traitant les maladies (**Maki *et al.*, 2019**).

L'utilisation d'antibiotiques affecte le microbiote intestinal, la réponse immunitaire et les performances, modifiant le microbiote du tractus gastro-intestinal, réduisant ainsi la charge bactérienne totale et supprimant les agents pathogènes. Globalement, ne modifie pas le fonctionnement du microbiote (**Maki *et al.*, 2019**).

Les antibiotiques promoteurs de croissance ont déjà été interdits dans le monde entier en raison du développement de micro-organismes résistants aux antibiotiques et de l'augmentation du risque d'infection. Leur utilisation entraîne un déséquilibre de la microflore intestinale, ainsi que de graves dangers pour la santé des oiseaux et des consommateurs de produits avicoles, et leurs résidus influencent l'environnement (**Bostami *et al.*, 2015**).

2.2.6. Migration et interactions sociales

Chez les oiseaux, la migration est un comportement qui peut influencer la composition microbienne intestinale. Les oiseaux de rivage migrateurs régulent à la baisse leur tube digestif avant les migrations aux longues distances, ce qui entraîne une réduction moyenne de 30 % de la longueur de leur tube digestif. Des réductions significatives de la longueur de l'intestin affectent les fonctions physiologiques et les taux d'absorption, et peuvent réduire l'habitat physique des micro-organismes. De plus, le manque d'apport en nutriments pendant le vol peut entraîner un épuisement du microbiote (**Grond *et al.*, 2018**).

L'exposition environnementale des oiseaux migrateurs est supérieure à celle des oiseaux résidents, en fonction de leur fidélité spatiale et au site, ils sont donc moins exposés à divers inocula pour recruter le microbiote intestinal (**Lewis *et al.*, 2017**).

Les interactions aviaires peuvent faciliter le transfert microbien par contact étroit et coprophagie involontaire (**Grond *et al.*, 2018**).

2.3. Rôle de la microflore intestinale chez les volailles

Les oiseaux représentent une ligne diversifiée et évolutive, avec plus de 10 000 espèces existantes. Dans le tube digestif, il existe de multiples interactions entre les cellules de l'hôte (les oiseaux), l'environnement intestinal, les cellules bactériennes et les composants alimentaires. Ces interactions mettent en évidence le rôle extrêmement important du microbiote intestinal dans la santé des oiseaux. (**Tellez *et al.*, 2006 ; Waite et Taylor, 2015**).

Les sections suivantes résument brièvement le rôle de la microflore intestinale chez les volailles

2.3.1. Digestion

Le microbiote intestinal est largement impliqué dans la digestion des produits alimentaires, facilitant la décomposition des polymères alimentaires en composés que l'hôte peut utiliser (**Grond *et al.*, 2018**), aidant à hydrolyser les polysaccharides, les oligosaccharides et les disaccharides en sucres primaires et à fermenter ces sucres pour produire des acides gras à chaîne courte (AGCC) tels que l'acétate, le propionate et le butyrate, qui constituent une source d'énergie importante pour les cellules épithéliales intestinales, et même hydrolyser les sels biliaires importants pour la production de polysaccharides non amylacés et le métabolisme des lipides, ainsi que synthétiser des vitamines (les vitamines B, la vitamine K) (**Pan et Yu, 2014 ; Clavijo et Flórez, 2018 ; Kogut et Zhang, 2022**).

Les bactéries intestinales contribuent également au métabolisme de l'azote. Exemple, les bactéries urogénitales capables de décomposer l'acide urique en ammonium peuvent pénétrer dans le caecum à partir du cloaque, permettant à l'hôte d'absorber l'ammonium, qui est ensuite utilisé pour synthétiser les protéines et certains acides aminés, tels que l'acide aminé glutamine. **(Pan et Yu, 2014 ; Clavijo et Flórez, 2018).**

La présence de bactéries dégradant la mucine est associée à la santé intestinale car elles exercent une pression sélective sur les bactéries qui ne peuvent pas adhérer aux surfaces muqueuses. **(Clavijo et Flórez, 2018).**

2.3.2. Fonction immunitaire

L'une des caractéristiques uniques du système immunitaire aviaire est la bourse de Fabricius, qui est le principal site de développement des cellules B. Les bactéries colonisent la bourse immédiatement après l'éclosion et jouent un rôle dans le développement de réponses immunitaires adaptatives chez les oiseaux (peuvent jouer le rôle d'antigènes ou induisent la production de cytokines qui augmentent la prolifération et la maturation des cellules B dans la bourse), jusqu'à ce que la volaille atteigne maturité sexuelle, après il est principalement produit dans la moelle osseuse. À la maturité, la bourse s'atrophie et perd sa fonction. **(Kohl, 2012 ; Grond *et al.*, 2018).**

Le microbiote intestinal participe dans le développement et le maintien d'un système immunitaire intestinal efficace. Il est impliqué dans la réponse immunitaire en affectant le nombre, la distribution et le degré d'activation de la population cellulaire du système immunitaire intestinal. **(Gabriel *et al.*, 2006).**

Le microbiote intestinal est essentiel pour le développement des organes immunitaires primaires et secondaires, en particulier l'activation et la prolifération des cellules B, qui à leur tour favorisent la sécrétion d'immunoglobuline A (IgA) dans la muqueuse et l'activation des lymphocytes T. Les microbes intestinaux sont associés à une densité de cellules gobelets plus élevée et à une expression accrue du gène de la mucine-2, conduisant à une sécrétion de mucus protecteur. **(Kogut et Zhang, 2022).**

2.3.3. Détoxification

Le microbiote intestinal aviaire, notamment ceux associés au jabot et au caecum, peut être impliqué dans la détoxification des matières végétales et d'autres composants alimentaires. **(Grond *et al.*, 2018).**

Les phénols, les résines et les saponines, représentent des composants de défense des plantes contre les herbivores qui sont souvent indigestes ou toxiques pour les oiseaux, mais ils sont consommables dans l'alimentation des oiseaux herbivores, car ces composants sont riches en énergie, il a été suggéré que les hôtes puissent héberger des microbes détoxifiants pour économiser de l'énergie. Le jabot est la première région de l'intestin à traiter les aliments comestibles et donc le dépôt plausible pour ces microbes qui jouent un rôle dans la détoxification et la diversification du régime alimentaire au cours de l'évolution. (Kohl, 2012 ; Grond *et al.*, 2018).

2.3.4. Rôle sur la physiologie et la morphologie digestive

La période qui suit l'éclosion de l'œuf est cruciale pour la croissance et la santé des volailles, car le nouveau-né passe de la source du jaune d'œuf à une alimentation à base de glucides et de protéines. Pour s'adapter à la transition rapide de la source de nutriments, les organes digestifs subissent des changements anatomiques et physiologiques au cours de ce stade précoce. Le développement rapide de l'intestin fournit une niche idéale pour la colonisation microbienne, qui joue un rôle important dans le développement du tube digestif. (Pan et Yu, 2014 ; Clavijo et Flórez, 2018).

En présence d'une flore intestinale, le contenu digestif est généralement plus acide et le potentiel d'oxydoréduction plus faible chez les animaux sans germe. La microflore induit une augmentation de la production de mucines, et une modification des proportions des différents types de glycoprotéines qui les composent. Les AGCS produits par la flore améliorent la motilité iléale et augmentent la croissance et la prolifération des entérocytes. (Van Immerseel, 2003 ; Gabriel *et al.*, 2006).

Le microbiote intestinal affecte également la morphologie intestinale des volailles à faible charge bactérienne, car ces derniers avaient des villosités intestinales plus courtes, des cryptes moins profondes et le poids des intestins grêle inférieur à ceux des oiseaux élevés de manière conventionnelle (Pan et Yu, 2014).



Chapitre 3 :
Probiotiques

3.1. Historique et Définition

Le terme probiotique dérive des deux mots grecs "*pros*" et "*bio*" qui signifient littéralement "pour la vie" ou « en faveur de la vie », contrairement au terme antibiotique signifiant "contre la vie" (Nataraj et Mallappa, 2021).

Le concept de probiotiques a été développé pendant des décennies. En 1899, Henry Tissier a observé que les selles des enfants souffrant de diarrhées avaient des niveaux inférieurs de bifidobactéries par rapport aux selles d'enfants en bonne santé, et il a noté que les bifidobactéries étaient impliquées dans la restauration d'une flore intestinale saine. Quelques années plus tard, Eli Metchnikoff, est lauréat du Nobel après la confirmation que : « l'allongement de la durée de vie des paysans Bulgares serait dû à leur consommation de lait fermenté » (Guarner et al., 2008 ; Gogineni et al., 2013 ; Alsaed et al., 2017).

En 1965, ce terme a été utilisé par Lilly et Stillwell dans un contexte différent pour représenter les « substances sécrétées par un organisme qui stimulent la croissance d'un autre organisme ». Par la suite, en 1974, Parker élargit cette définition à des « substances et des organismes qui provoquent l'équilibre microbien dans le tractus gastro-intestinal ». En 1989, Fuller a redéfini les probiotiques comme « un complément alimentaire microbien vivant qui a un effet bénéfique sur l'animal hôte en améliorant son équilibre microbien intestinal » (Gasbarrini et al., 2016 ; Zendeboodi et al., 2020 ; Greeshma et al., 2022).

La définition actuelle est celle adoptée par les experts des commissions de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ; les probiotiques sont des "micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes, exercent un effet bénéfique sur l'hôte" (Kareb et Aïder, 2019).

3.2. Critères de sélections

La sélection appropriée de souches probiotiques est une étape curiale pour garantir les bénéfices souhaitables pour la santé. Le choix des probiotiques dépend de ces propriétés et du type d'utilisation (Tableau II). Selon le rapport de la FAO/OMS (2002), ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolées d'une souche à l'autre même au sein d'une seule espèce (Dunne et al., 2001 ; Terpou et al., 2019).

Tableau II. Principaux critères de sélection des probiotiques (Tripathi et Giri, 2014 ; Markowiak et Ślizewska, 2018 ; Kareb et Aïder, 2019).

| | |
|---------------------------------------|--|
| <p>Critères de sécurité</p> | <ul style="list-style-type: none"> ○ Origine humaine ou animale. ○ Souche non-pathogène et non toxique et reconnue comme sûres (GRAS). ○ Identification diagnostique précise (souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques). ○ Souche déposée dans une collection de cultures internationale. ○ Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques. |
| <p>Critères fonctionnels</p> | <ul style="list-style-type: none"> ○ Tolérance à l'acidité, la bile et aux enzymes digestifs. ○ Adhérence et colonisation de l'épithélium/des tissus intestinaux. ○ Antagonisme vis-à-vis des pathogènes et production de substances antimicrobiennes (Bactériocines, acides organiques, les acides gras, le peroxyde d'hydrogène et le diacétyl ou autres composés inhibiteurs). ○ Modulation du système immunitaire ○ Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé. |
| <p>Critères technologiques</p> | <ul style="list-style-type: none"> ○ Facilité la production de quantités élevées de biomasse et productivité élevée des cultures ○ Capacité à survivre et à conserver leurs propriétés tout au long des processus de stockage et de distribution, et même après production. ○ Génétiquement stable. ○ Rentable. ○ Résistance aux phages. ○ Caractéristiques sensorielles appropriées. |

3.3. Microorganismes probiotiques

De nombreux micro-organismes sont actuellement utilisés comme probiotiques. En alimentation humaine, les genres microbiens les plus utilisés comme probiotiques sont : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus*. D'autre part, les levures, notamment *Saccharomyces cerevisiae*, jouent un rôle majeur chez les ruminants ; tandis que *Bacillus*, *Enterococcus* et *Lactobacillus* sont plus susceptibles d'être efficaces chez les porcs et la volaille et dans les pratiques aquacoles les plus couramment utilisés étant *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Shewanella*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, et *Saccharomyces* (**Tableau III**) (Syngai *et al.*, 2016).

Tableau III. Quelques espèces contribuées au vaste groupe de micro-organismes probiotiques (Kareb et Aïder, 2019).

| <i>Lactobacillus</i> | <i>Bifidobacterium</i> | <i>Lactococcus</i> | <i>Enterococcus</i> |
|--|------------------------|---|------------------------------|
| <i>L. acidophilus</i> | <i>B. bifidum</i> | <i>L. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> | <i>E. faecalis</i> |
| <i>L. rhamnosus</i> | <i>B. animalis</i> | <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> | <i>E. faecium</i> |
| <i>L. gasseri</i> | <i>B. breve</i> | | Others |
| <i>L. casei</i> | <i>B. infantis</i> | | <i>S. thermophilus</i> |
| <i>L. reuteri</i> | <i>B. longum</i> | | <i>P. freudenreichii</i> |
| <i>L. bulgaricus</i> | <i>B. lactis</i> | | <i>P. acidilactici</i> |
| <i>L. plantarum</i> | <i>B. adolescentis</i> | | <i>S. cerevisiae</i> |
| <i>L. salivarius</i> | | | <i>S. boulardi</i> |
| <i>L. johnsonii</i> | | | <i>L. mesenteroides</i> |
| <i>L. fermentum</i> | | | <i>E. coli</i> strain Nissle |
| <i>L. helveticus</i> | | | Some <i>Bacillus</i> spp. |
| <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> | | | |

3.4. Mécanismes d'action

Les probiotiques jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre et de la stabilité du microbiote intestinal, principalement en prévenant les infections, la croissance de bactéries potentiellement nocives et en améliorant les réponses immunitaires. En général, les probiotiques sont capables d'exercer leurs effets bénéfiques par différents mécanismes (**Figure 4**) (Bermudez-Brito *et al.*, 2012).

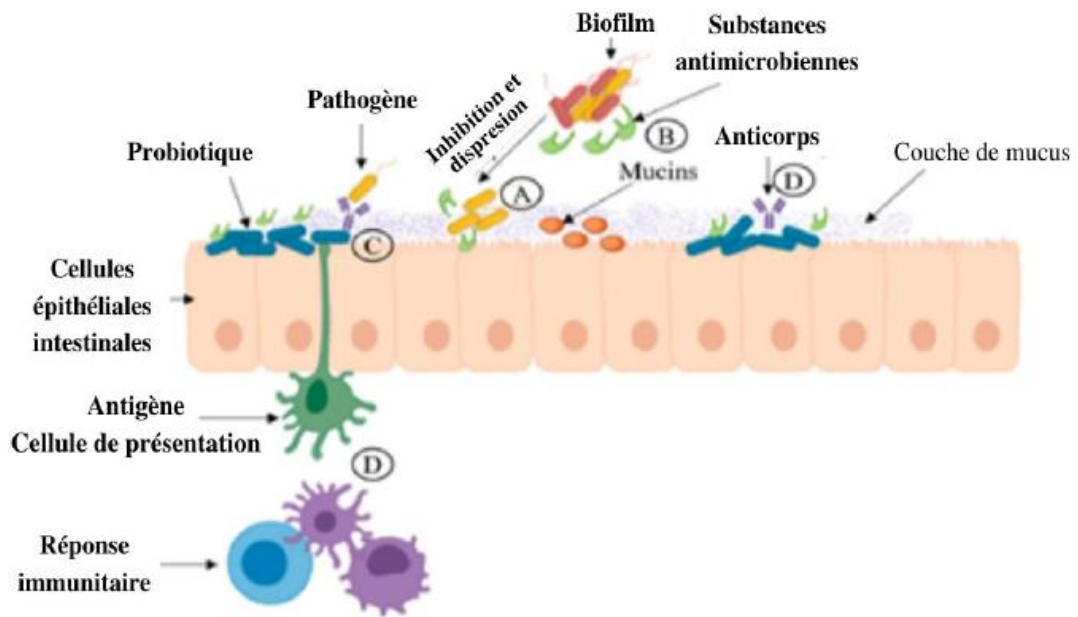


Figure 4. Mécanismes d'action des probiotiques.

(A) Exclusion compétitive des microorganismes pathogènes. (B) Production de substances antimicrobiennes. (C) Augmentation de l'adhésion à la muqueuse intestinale et amélioration de la barrière épithéliale. (D) Stimulation du système immunitaire (Silva et al., 2020).

3.4.1. Exclusion compétitive des microorganismes pathogènes

Il s'agit d'une condition dans laquelle une espèce bactérienne est plus apte à se fixer aux cellules épithéliales que d'autres via des récepteurs, empêchant ainsi les autres espèces de se lier (Plaza-Diaz et al., 2019).

Les souches probiotiques utilisent des mécanismes tels que la création d'écosystèmes concurrents, la destruction d'autres sites de récepteurs bactériens, la production et la sécrétion d'antimicrobiens et de métabolites sélectifs, et la réduction compétitive des nutriments pour éliminer et empêcher les agents pathogènes de se lier aux TGI et d'améliorer la persistance intestinale (O'Hara et Shanahan, 2007 ; Bermudez-Brito et al., 2012).

3.4.2. Production de substances antimicrobiennes

Les souches probiotiques produisent diverses substances antibactériennes efficaces contre les microorganismes telles que le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines qui agissent sur les membranes des cellules cible par la formation de pores et la fuite ultérieure de matériel cellulaire, entraînant la mort de bactéries pathogènes, et agissent également comme anticancéreux et des

acides gras à chaîne courte (acide acétique, acide butyrique et acide propionique), qui provoquent une réduction locale du pH, créant un environnement défavorable aux agents pathogènes et des biosurfactants à activité antibactérienne (**Raheem *et al.*, 2021 ; Abdisa *et al.*, 2022**).

3.4.3. Augmentation de l'adhésion à la muqueuse intestinale et amélioration de la barrière épithéliale

La barrière intestinale est un mécanisme de défense majeur servant à maintenir l'intégrité épithéliale et protéger l'organisme contre les agressions de l'environnement. Les défenses de la barrière intestinale sont constituées par la couche muqueuse, les peptides antimicrobiens, les IgA sécrétoires et le complexe d'adhérence de la jonction épithéliale (**Bermudez-Brito *et al.*, 2012**).

L'amélioration de la fonction barrière de la muqueuse intestinale est liée au renforcement des jonctions serrées, à l'augmentation du renouvellement entérocytaire, à la stimulation de la synthèse de la mucine, à la sécrétion de peptides antimicrobiens comme les β -défensines, le lysozyme et à la synthèse des vitamines (**Alexandre *et al.*, 2014**).

3.4.4. Modulation du système immunitaire

La modulation du système immunitaire repose sur l'interaction des probiotiques avec le système immunitaire inné ou adaptatif pour augmenter la réponse immunitaire de l'hôte contre certaines pathologies, telles que les allergies alimentaires (eczéma atopique) ou d'inflammations (maladies inflammatoires chroniques intestinales) (**Fong *et al.*, 2016 ; O'Hara et Shanahan, 2007**). Les probiotiques agissent en stimulant l'activité des phagocytes et en améliorant la production d'immunoglobuline IgA intestinale. Ils agissent également pour moduler les profils des cytokines et induire une hyporéactivité aux antigènes alimentaires (**Guarner *et al.*, 2008 ; Van Zyl *et al.*, 2020**).

La stimulation immunitaire par les probiotiques dans l'intestin peut améliorer la protection immunitaire dans les sites muqueux distaux, tels que les voies génito-urinaires et les voies respiratoires (**O'Hara et Shanahan, 2007**).

3.4.5. Interférence avec les signaux de détection du quorum

Les bactéries communiquent entre elles et avec leur environnement grâce à des molécules de signalisation chimique appelées autocapteurs (IA). Ce phénomène est appelé quorum sensing (QS). L'utilisation de ce mécanisme de signalisation de cellule à cellule aide à moduler des

caractéristiques importantes des microbes intestinaux qui leur permettent de s'adapter à leur environnement (**Gogineni *et al.*, 2013 ; Kiymaci *et al.*, 2018**).



***Etude
expérimentale***

L'intégralité de notre travail a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel, durant la période Avril-juillet 2022.

1. Matériel biologique

Au cours de cette étude, nous avons utilisé le matériel suivant :

✓ Animal d'expérience : L'étude a été réalisée sur une caille japonaise mâle Agée environ un mois et achetée chez un coturniculteur local à Jijel, près de Ziama mansouriah, en Algérie.

✓ Les cellules épithéliales intestinales : Les cellules épithéliales du poulet (*Gallus gallus*) ont été préparées au niveau du laboratoire et qui ont servi pour étudier la capacité d'adhésion in vitro de nos souches lactiques.

✓ Les souches pathogènes utilisées pour effectuer le test de co-agrégation avec les souches lactiques isolées et le test d'activité antimicrobienne in-vitro sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Méthodes expérimentales

2.1. L'abattage du caille et prélèvement des échantillons

La caille a été abattue par saignée directe, puis une plumaison manuelle à sec a été réalisée dans le laboratoire (sans l'utilisation d'eau chaude). Nous avons ensuite placé la face dorsale de l'animal sur le fond de la cuvette à dissection et, à l'aide d'un ciseau métallique stérile, nous avons fait une boutonnière devant l'orifice du cloaque, après on a utilisé une lame de bistouri pour inciser la peau de quelques millimètres dans le plan sagittal devant la boutonnière jusqu'au menton (cette incision ne doit concerner que la peau). On a détaché la peau, puis on a coupé avec le ciseau les muscles pectoraux de chaque côté du bréchet et par la suite on a retiré le sternum (d'abord, on sépare le sternum des côtes en remontant vers les épaules, puis désarticulé les os coracoïdes, et enfin détaché le sternum d'arrière en avant) (**Figure 5**). Les muscles abdominaux ont été incisés et les organes suivants ont été prélevés : jabot, cœur, l'intestin grêle, le gros intestin, les caeca (**Figure 6**). (**REZGUI et DI SPIGNO, 2008 ; Guerin et Boissieu, 2008 ; Majó et Dolz, 2012**).

Remarque : Nous avons abandonné l'étape de l'étourdissement de l'abattage de la caille vue le manque de matériel au laboratoire.



Figure 5. la caille après la dissection.



Figure 6. Les organes prélevés de caille.

2.2. Préparation des échantillons

Nos échantillons (jabot, segment duodénum) ont été prélevés et rincé avec le tampon PBS pour éliminer les résidus alimentaires collants après avoir nourrit. Les échantillons ont été introduits aseptiquement dans des tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation à l'aide d'un vortex électrique, on a réalisé des dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} .

2.3. Isolement et purification des souches des bactéries lactiques

Un volume de 100µl de chaque dilution est étalé sur le milieu MRS agar préalablement stérilisé et coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 48h heures (Wassie et Wassie, 2016 ; Padmavathi *et al.*, 2018).

Après incubation, les colonies individuelles ont été prélevées et transférées dans des tubes contenant 5 ml de bouillon MRS stérile (Lore *et al.*, 2005). La purification est effectuée par repiquage répété sur milieu gélosé approprié jusqu'à obtention des colonies homogènes. La pureté des bactéries isolées a été confirmée par étude microscopique (Thapa *et al.*, 2006).

➤ **Examen macroscopique** : la caractérisation macroscopique a été effectuée en observant les colonies des bactéries lactiques sur la gélose MRS agar. Les colonies ont été observées au niveau de la forme, la couleur, la texture, des bords, la taille et la hauteur (Putri *et al.*, 2020).

➤ **Examen microscopique** : l'examen microscopique est mis en évidence par la coloration de Gram qui permet de distinguer les bactéries Gram (-) roses et les bactéries

Gram (+) violettes. Cette différence de couleur est liée à la nature de la paroi bactérienne (**Lanotte et Isnard, 2016**).

La coloration de Gram a été réalisée selon le protocole décrit par **Joffin et Leyral (2006)** : Préparation du frottis par étalement de l'inoculum bactérien puis fixation par la chaleur, le frottis fixé a été coloré avec du cristal violet pendant 1 minute, ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité avec la solution de Lugol pendant 1 minute et rincés à nouveau rapidement et abondamment à l'eau courante. Décolorer à l'alcool pendant 10 secondes, puis rincer immédiatement à l'eau courante et colorer avec la Fuch sine pendant 1 minute après lavée à l'eau. Sécher la lame avec du papier et ajouter une goutte d'huile à immersion, puis observer au microscope (objectif x 100).

➤ **Test de catalase :** La catalase est une enzyme catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en oxygène et en eau selon la réaction suivante :



Pour mettre en évidence cette enzyme. Une colonie isolée et prélevée de la gélose a été diluée avec une goutte de peroxyde d'hydrogène sur une lame de verre stérile. L'apparition des bulles d'air indique la présence de la catalase (**Khan, 2014**).

2.4. Conservation à long terme

A partir des cultures jeunes de 18 heures incubées dans bouillon MRS, les cellules ont été récupérées par centrifugation à 4000 tr/min pendant 10 min. Une fois surnageant était éliminée, on a ajouté le milieu de conservation sur le culot.

Ce milieu contient 70 % de lait écrémé et 30 % de glycérol. Les cultures ont été conservées sous forme de suspensions denses dans des Eppendorfs à -20°C. En cas de besoin, les souches sont repiquées dans du lait écrémé enrichi 0.05 % d'extrait de levure, deux fois avant l'utilisation (**Badis et al., 2005**).

2.5. Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des isolats lactiques in vitro :

2.5.1. Tolérance aux sels biliaires

La tolérance de la souche à la bile a été réalisée selon la méthode décrite par **Li et al. (2020)** avec des modifications mineures. 0.5 ml de cultures bactériennes jeunes de 18h ont été inoculées dans 5ml de bouillon MRS avec 0,3% de sels biliaires et dans le MRS témoin (sans

sels biliaries). La lecture de la densité optique à 620 nm a été mesurée après 4 heures d'incubation à 37°C.

Le pourcentage de tolérance à la bile a été calculé en comparant les valeurs de DO des bactéries dans le bouillon MRS avec et sans sels biliaries :

$$\% \text{ de survie} = [\text{DO}_{\text{sels biliaries}} / \text{DO}_{\text{Témoin}}] \times 100$$

2.5.2. Tolérance aux acides

La technique décrite par **Rajoka et al. (2018)**, a été appliquée pour évaluer la capacité des souches à survivre en milieu acide. Brièvement, 0,5 ml d'une culture bactérienne jeune de 18 heures a été inoculé dans 5 ml de bouillon MRS ajusté à pH 2,5 et pH 6,2 (MRS à pH 6,2 comme témoin). La densité optique a été mesurée à 620 nm après 2h d'incubation à 37°C.

Le pourcentage de survie a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de survie} = (\text{DO}_{\text{MRS pH acide}^*} / \text{DO}_{\text{MRS pH}_{6,2}}) \times 100$$

2.5.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques des isolats de bactéries lactiques a été évaluée sur gélose MRS en utilisant la méthode de diffusion à partir des disques d'antibiotiques.

La gélose MRS a étéensemencée à partir des cultures fraîches des souches de bactéries lactiques à l'aide d'écouvillons stériles et laissées sécher sur la paillasse pendant 15 minutes à température ambiante. Ensuite, les disques antibiotiques suivants : Streptomycine (S), Tétracycline (T), Ampicilline (P) ont été déposés à la surface du milieu inoculé et incubés à 37°C pendant 48 heures (**Somashekaraiah et al., 2019**).

Les diamètres des zones d'inhibition (DZI) ont été mesurés en incluant le diamètre des disques. Les résultats ont été exprimés en terme de sensibilité (S), de sensibilité intermédiaire (I) et de résistance (R). Selon les valeurs proposées par la Société Française de Microbiologie (SFM) (**Bonnet et al., 2013**), on a :

- **Ampicilline 10 µg** : souche sensible $\text{DZI} \geq 21\text{mm}$, souche résistante $\text{DZI} < 16\text{ mm}$ et souche à sensibilité modérée $16\text{ mm} \leq \text{DZI} < 21\text{ mm}$.

- **Streptomycine 10 UI** : souche sensible $DZI \geq 15$ mm et souche résistante $DZI < 13$ mm et souche à sensibilité modérée $13 \text{ mm} \leq DZI < 15$ mm.
- **Tétracycline 30 UI** : souche sensible $DZI \geq 19$ mm et souche résistante $DZI < 17$ mm et souche à sensibilité modérée $17 \text{ mm} \leq DZI < 19$ mm.

2.5.4. Etude de l'activité antibactérienne (test des puits)

La détection de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques a été déterminée par le test de diffusion tel que décrit par **Mezaini *et al.* (2006)** avec des modifications mineures. Brièvement, la gélose Muller Hinton préalablement coulée et solidifiée a étéensemencée par étalement à l'aide d'écouvillons stériles avec des cultures fraîches des souches pathogènes suivantes : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dont les densités optiques à 620 nm ont été ajustées entre 0,08 et 0,1, suivi d'une incubation à 37°C pendant 45 minutes. Des puits ont été percés dans chaque gélose inoculée avec des embouts stériles de 5 mm de diamètre, ensuite chaque puits est imbibé par 50µl du surnageant obtenu après une centrifugation à 15 000 g pendant 10 minutes des cultures jeunes des souches cultivées en bouillon MRS.

Les boîtes sont laissées sur la paillasse pendant un certain moment pour assurer la diffusion du surnageant, ensuite elles sont incubées à 4°C pendant 2 heures, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. L'activité antimicrobienne est traduite par l'apparition des zones claires autour des puits.

2.5.5. Etude de l'hydrophobicité

L'hydrophobicité de surface (H%) de chaque souche a été réalisé selon la méthode décrite par **Bouridane *et al.* (2016)**. Le culot bactérien d'une culture de 18h a été récupéré par centrifugation à 12 000 rpm /15min, suivi par deux lavages successifs avec du tampon PBS, puis remis en suspension dans 1,2 ml de tampon PBS (pH 7). La densité optique initiale de la suspension a été ajustée approximativement 0.7 à 450 nm (DO initiale).

Ensuite 0.6 ml de xylène a été ajouté doucement et séparément à 3 ml de la suspension bactérienne puis incubée à 37°C pendant 10 min. Le mélange a été agité pendant 2 minutes à l'aide d'un vortex et incubé à température ambiante pendant 15 minutes, la phase aqueuse a été récupérée à l'aide d'une micropipette et la densité optique finale (DO finale) a été mesurée.

L'hydrophobicité de la surface cellulaire (H%) est calculée par l'équation suivante :

$$H\% = [(DO_{\text{initiale}} - DO_{\text{finale}}) / DO_{\text{initiale}}] \times 100$$

2.5.6. Etude de l'aptitude à l'autoagrégation et à l'coagrégation

L'autoagrégation a été évaluée selon la technique décrite par **Cizeikiene et Jagelaviciute (2021)**. Le culot bactérien de la souche incubée à 37°C pendant 18 h a été récupéré par centrifugation (5000 rpm/10 min) et lavé deux fois avec du tampon PBS (pH 7) et remis en suspension dans 4 ml du même tampon ; une agitation de 10 secondes a été procédée et l'absorbance de la suspension initiale a été ajustée à 0.6. Après 3 h d'incubation à 37°C, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 620 nm.

Le pourcentage d'autoagrégation a été calculé selon l'équation suivante (**Beldarrain-Iznaga et al., 2021**) :

$$\text{Auto-aggrégation (\%)} = (Abs_0 - Abs_t / Abs_0)$$

Avec : Abs_t : DO à t heure d'incubation ; Abs_0 : DO à t_0 .

Pour la co-agrégation, la suspension cellulaire des isolats a été préparée de la même manière que le test d'auto-agrégation. Cependant, la cultures *Escherichia coli* ATCC 25922, a étéensemencée dans le bouillon nutritif à 37 °C pendant 18 h et le culot bactérien a été récupérée par centrifugation à 5 000 rpm pendant 15min, lavé deux fois avec du PBS et leur absorbance à 620 nm a été ajustée à 0.7

Une fois les suspensions préparées, 2 ml de chaque suspension (isolats et souche pathogène) ont été mélangés avec du vortex pendant 10 secondes et incubés à 37°C pendant 3 heures. Après incubation, l'absorbance du mélange (A_{mix}) a été mesurée à 620 nm (**Cizeikiene et Jagelaviciute ,2021**).

Le pourcentage de co-agrégation a été déterminé par l'équation suivante (**Beldarrain-Iznaga et al., 2021**) :

$$\text{Co-aggrégation \%} = [(A_{\text{lactique}} + A_{\text{pathogène}}) - A_{\text{mix}}] / [(A_{\text{lactique}} + A_{\text{pathogène}})] \times 100$$

2.5.7. Adhésion aux cellules épithéliales

Le test consiste à étudier la capacité des bactéries à effets probiotiques à adhérer aux cellules épithéliales intestinales. La méthode décrite par **Lin et Chien (2007)** a été appliquée selon les étapes suivantes :

- **Préparation des cellules épithéliales :** un segment de l'iléon de poulet de chair a été ouvert et lavé avec du tampon phosphate salin stérile (PBS pH 7.4) et gâtée avec une lame stirille, il est ensuite placé dans un bain de PBS et réfrigérée à 4 °C pendant 30 minutes, afin de faciliter la récupération des cellules de la muqueuse. Après ce temps d'incubation, la préparation a été lavée 10 fois avec du PBS stérile puis laissé reposer à 4°C pendant 3 heures. La solution obtenue après cette période d'incubation est une suspension de cellules épithéliales.

Des dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à 10⁻⁴, cette suspension cellulaire a été examinée par microscope pour assurer qu'elle n'était pas contaminée et que la concentration des cellules épithéliales est approximativement 5x10⁴ cellules/ml.

- **Préparation de culture bactérienne :** le culot bactérien d'une culture de 18 h a été récupéré par centrifugation à 6 000 rpm pendant 10 min, puis lavé deux fois avec du PBS, et le culot a été repris dans 2ml de même tampon. À partir de ce dernier, une simple coloration au violet de gentiane a été réalisée suivie d'une observation microscopique (Gx100) pour standardiser l'inoculum à 10⁸ cellules/ml.

- **Adhésion et observation microscopique :** 1 ml de la suspension bactérienne a été mélangé avec 1 ml de la dilution 10⁻⁴ de la suspension des cellules épithéliales déjà préparées. Après l'incubation à 37°C pendant 45 min, un frottis a été préparé et coloré avec du cristal violet à 0,5 % pendant 5 min pour observer l'adhésion au microscope optique e test est considéré comme positif si le nombre de bactéries adhérentes est supérieur à 15/cellule.

2.6. Autres tests

2.6.1. Tolérance aux phénols

La capacité des souches à survivre en présence d'une solution de phénol a été étudiée selon la méthode de **Forhada et al. (2016)** avec de légères modifications. Bref, 1 % (v/v) de cultures bactériennes fraîches d'une nuit ont été inoculées dans un bouillon MRS avec et sans 0,4 % de phénol et incubées à 37 °C pendant 4 h. La résistance des souches aux phénols a été déterminée en mesurant la densité optique à 620 nm.



Le pourcentage de survie a été calculé selon l'équation suivante (**Parlindungan et al., 2021**) :

$$\% \text{ de survie} = (\text{DO échantillon} / \text{DO témoin}) \times 100$$

2.6.2. Etude de la résistance à la toxicité du peroxyde d'hydrogène

La technique décrite par **Li et al. (2012)** a été appliquée avec des modifications mineures. 1 % (v/v) de cultures bactériennes fraîches d'une nuit ont étéensemencées dans un bouillon MRS avec et sans peroxyde d'hydrogène 0,7 mM et incubées à 37 C pendant 8 h (Les cultures bactériennesensemencées sur le bouillon MRS ont été utilisées comme témoin). La croissance cellulaire a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 620 nm.

Le pourcentage de survie a été calculé selon l'équation suivante (**Mu et al., 2001**) :

$$\% \text{ de survie} = (\text{Ae} / \text{At}) \times 100$$

Avec : Ae : l'absorbance de l'échantillon ; **At** : l'absorbance de témoin



***Résultats
et
discussions***

1.1. Isolement et purification des bactéries :

Les résultats de l'isolement et de la purification des souches à partir du tube digestif (jabot, intestin) de la caille japonaise (*Coturnix japonica*) nous ont permis d'obtenir 23 souches de bactéries lactiques.

➤ Examen macroscopique :

Sur gélose MRS, apparaissent des colonies distinctes bien séparées de différentes tailles, blanches brillantes, rondes, avec des contours réguliers et des surfaces lisses. Après purification, différentes colonies de même taille et de même couleur ont été observées sur chaque boîte, témoignant la pureté des isolats.

Sur bouillon MRS, la croissance des isolats se traduit par la formation de trouble et la formation d'un précipité blanc au fond du tube dû à la formation de l'acide lactique (**Figure 7**).

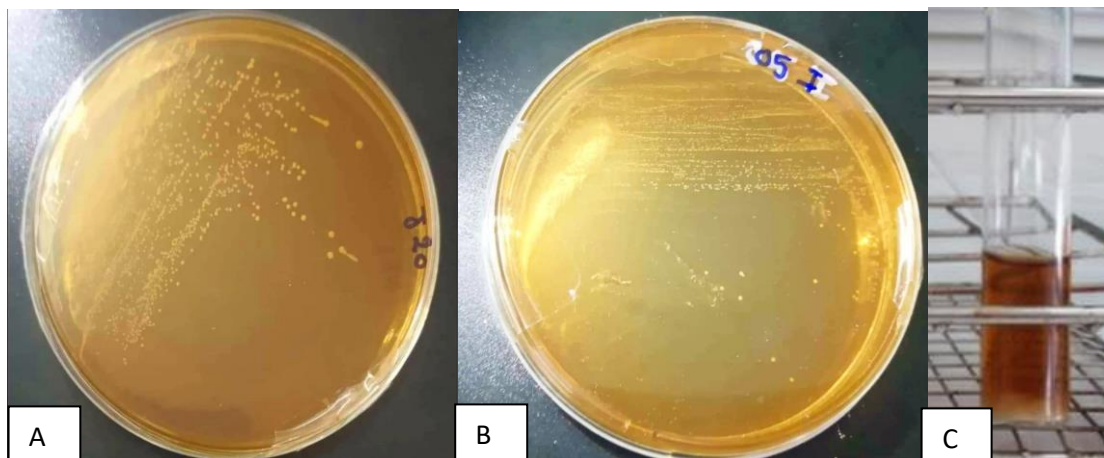


Figure 7. Observation macroscopique des isolats.

(A) : Aspect des colonies isolées à partir du jabot sur gélose MRS. (B) : Aspect des colonies isolées à partir de l'intestin sur gélose MRS. (C) : Culture dans le bouillon MRS.

➤ Examen microscopique :

Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré la présence des souches Gram-positives et Gram-négatives, en forme de bacille et de coccus, la majorité des souches étudiées étaient des cocci (**Figure 8**).

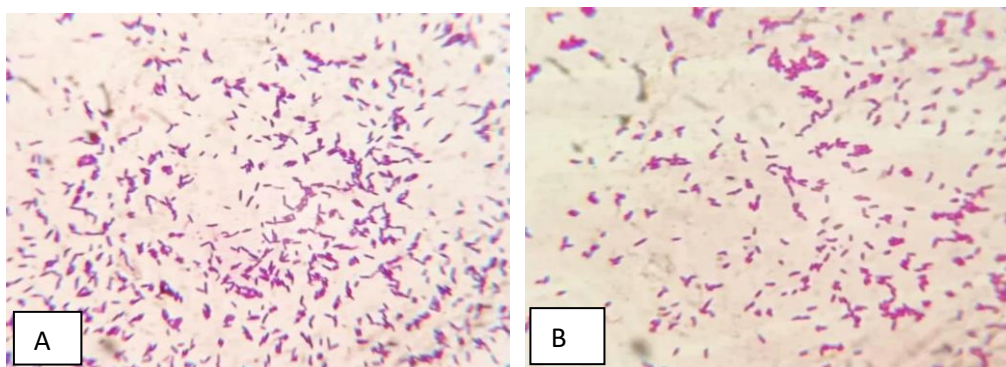


Figure 8. Photomicrographie des souches isolées après fixation (coloration de Gram) (Gx100)

(A) : Observation microscopique des bactéries gram positifd. (B) : Observation microscopique des bactéries gram négatifs.

➤ **Test de catalase :**

D'après les résultats obtenus, 21 souches étaient catalase négatives, elles n'avaient pas de catalase, donc ne pouvaient pas dégrader le peroxyde d'hydrogène (aucune bulle d'air n'apparaissait), tandis que les souches restantes étaient catalase positives (**Figure 9**).



Figure 9. Résultats du test de catalase sur lame (exemple de réaction positive reflétée par la formation de bulles).

Les résultats des tests de purification des isolats basés sur la forme des cellules, la coloration de Gram et la production de catalase sont présentés dans **Tableau IV** :

Tableau IV. Résultats des tests utilisés pour la purification des isolats.

| Milieu | Isolat | Catalase | Gram | Forme |
|--------|-----------------|----------|------|-------|
| | J ₀₁ | - | + | COCCI |
| | J ₀₂ | - | + | COCCI |
| | J ₀₃ | - | + | COCCI |
| | J ₀₆ | - | + | COCCI |
| | J ₁₀ | - | + | COCCI |

| | | | | |
|-----|--------------------|---|--------------------|---------|
| MRS | J ₁₂ | + | - | COCCI |
| | J ₁₃ | - | + | COCCI |
| | J ₁₇ | + | - | BACCILE |
| | J ₁₈ | - | + | BACCILE |
| | J ₁₉ | - | + | COCCI |
| | J ₂₀ | - | + | COCCI |
| | J ₂₁ | - | + | COCCI |
| | I ₀₁ | - | + | BACCILE |
| | I ₀₂ | - | + | COCCI |
| | I ₀₃ | - | + | COCCI |
| | I ₀₄ | - | + | BACCILE |
| | I ₀₅ | - | + | COCCI |
| | I ₀₇ | - | + | COCCI |
| | I ₀₈ | - | + | COCCI |
| | I ₀₉ | - | + | BACCILE |
| | I ₁₀ | - | + | COCCI |
| | (+) : test positif | | (-) : test négatif | |

1.2. Evaluation de quelques aptitudes probiotiques des isolats lactiques in vitro :

1.2.1. Tolérance aux sels biliaires

La tolérance aux sels biliaires est généralement considérée comme une propriété essentielle pour la survie des souches probiotiques aux conditions de l'intestin grêle (**Oyewole *et al.*, 2018**).

L'importance de la résistance des souches probiotiques aux sels biliaires vient du fait qu'elles perturbent l'homéostasie bactérienne. Des concentrations élevées de sels biliaires peuvent rapidement dissoudre les lipides membranaires, provoquer la dissociation des protéines membranaires intégrales, entraînant une fuite du contenu cellulaire conduisant à la mort cellulaire (**Musikasang *et al.*, 2009 ; Oyewole *et al.*, 2018**).

Dans notre étude, la concentration de 0,3 % de sels biliaires a été choisie car elle est considérée comme la concentration physiologiquement appropriée de la bile animale dans de nombreuses études (**Reuben *et al.*, 2019**).

Au reflet de la **figure 10**, nous avons remarqué que les isolats testés avaient des taux de survie relativement variables. La souche J18 avait le taux de survie le plus élevé avec 98,93 %, suivie par des souches ; I8 (76,1 %), J1 (75,7 %), I1 (74,1 %), J19 (71,7 %), I3 (69,4 %), I7 (63,1 %), J13 (60,6%). Les souches I9 et J10 ont les moins pourcentages de survie avec 47,7 % et 41,2 %, respectivement.

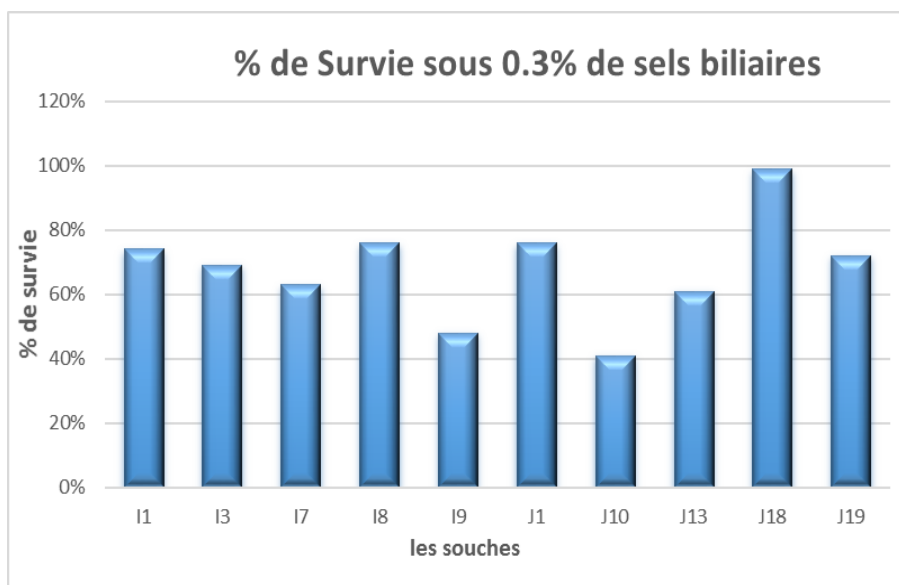


Figure 10. Pourcentage de survie des isolats en présence de 0.3% de sels biliaries.

Selon Victor et al. (2011), un isolat peut être considéré comme tolérant si son taux de survie est égal ou supérieur à 50 %. D'après nos résultats, nous avons constaté que 8 isolats de bactéries lactiques sur 10 avaient un taux de survie supérieur à 50 %.

En outre, nos résultats sont proches de ceux obtenus par Oyewole et al. (2018), où il a trouvé que toutes les souches de bactéries lactiques isolées de l'intestin de poulets étaient capables de survivre et de se développer dans 0,3 % de sels biliaries avec un taux de survie entre 68.74 – 89.98 %.

Contrairement à l'étude menée par Jannah et al. (2014), ils ont découvert que les bactéries lactiques isolées du tractus gastro-intestinal des poulets Cemani étaient incapables de survivre à 0,3 % de sels biliaries, mais qu'elles étaient capables de survivre à 0,1 % de sels biliaries. Même en 2018, Jannah et ses collègues ont trouvé que les bactéries lactiques isolées du tractus gastro-intestinal du poulet "Ayam Kampung" ne pouvaient pas tolérer 0,3% de sels biliaries. Par contre, elles ont tolérées dans les sels biliaries à 0,1 %.

Selon Daoudou et al. (2011), la résistance à la bile chez certaines souches est associée à l'activité enzymatique spécifique de l'hydrolase biliaire (BSH), qui aide à hydrolyser la bile conjuguée, réduisant ainsi ses effets toxiques. L'activité BSH se trouve le plus souvent chez les micro-organismes isolés de l'intestin ou des matières fécales des animaux.

1.2.2. Tolérance aux acides

Les souches probiotiques idéales doivent posséder les propriétés nécessaires pour se développer et survivre dans le système digestif de l'hôte car elles sont exposées à une gamme de conditions stressantes dans le tube digestif, y compris l'acidité qui affecte de manière significative la croissance bactérienne (Kareppa, 2019 ; Tsega *et al.*, 2019).

Les souches de bactéries lactiques présentent différentes stratégies de tolérance aux acides. Celles-ci incluent la production de substances alcalines pour neutraliser les acides par le système arginine dihydrolase, la neutralisation des protons dans le dioxyde de carbone produit par la fermentation malolactique et le transport des protons par activation de pompes à protons telles que F1-F0-ATPase (Ko *et al.*, 2022).

Les isolats de bactéries lactiques I1, I3, I7, I8, I9, J1, J10, J13, J18 et J19 ont été testés pour leur capacité à tolérer des conditions acides dans un bouillon MRS ajusté à pH 2,5.

Nos résultats (Figure 11) montrent que le taux de survie des isolats I1, J1, I8, est inférieure à 50% ; 41,3%, 31,4%, 25% respectivement, Alors que les valeurs observées pour les isolats J10, I3, J19, I7 I9, J13 J18 sont très élevée avec des pourcentages 98,8 %, 97,2%, 82,2%, 71,4%, 61,3%, 69,7%, 56,1% respectivement.

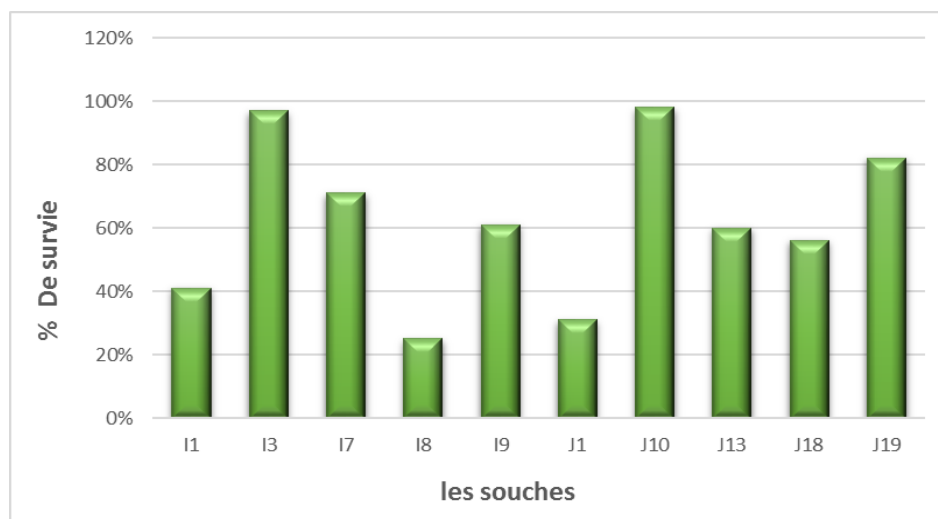


Figure 11. Taux de survie des isolats sur un milieu au PH acide (PH =2.5).

Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux d'Oyewole *et al.* (2018) où les souches de bactéries lactiques isolées de l'intestin de poulet présentaient une survie $\geq 50\%$ après exposition à un milieu à pH acide (pH = 2,5).

La plupart des bactéries se développent plus lentement à des niveaux de pH bas car la présence d'acides les endommage et réduit leur viabilité. Cependant, les bactéries lactiques ont la capacité de réguler leur pH cytoplasmique ou intracellulaire autour d'un pH neutre, même lorsqu'elles sont cultivées ou maintenues à un pH extracellulaire bas (Jannah *et al.*, 2018).

1.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'activité antibiotique est l'un des critères importants de sélection des probiotiques, et pour qui soient des probiotiques efficaces, les souches doivent avoir une résistance qui favorise leur survie dans le tractus gastro-intestinal des animaux (Oyewole *et al.*, 2018 ; Tsega *et al.*, 2019).

Les antibiotiques sont généralement ajoutés à l'alimentation des oiseaux (eau de boisson ou nourriture) à des doses sous-thérapeutiques comme traitements de contrôle des maladies ainsi que pour leurs effets stimulants de croissance (facteur de croissance). Cette routine expose souvent la microflore intestinale naturelle à des traces d'antibiotiques qui s'accumulent au fil des temps et confèrent une résistance aux antibiotiques aux bactéries lactiques (Oyewole *et al.*, 2018).

Dans notre étude, nous avons étudié la sensibilité des isolats ; J13, J18, I7, I8, I9 aux antibiotiques (streptomycine, tétracycline et ampicilline) dans des conditions aérobies en utilisant la méthode de diffusion par disque sur gélose MRS. Les résultats sont mentionnés dans le **tableau V**.

Tableau V. Résultats de la résistance des souches isolées aux antibiotiques.

| | Ampicilline (10 µg) | | Tétracycline (30 UI) | | Streptomycine (10 UI) | |
|--|---------------------|-------------|----------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | mm | Sensibilité | mm | Sensibilité | mm | Sensibilité |
| J13 | 23mm | S | 12mm | R | 9mm | R |
| J18 | 20mm | I | 11mm | R | 6mm | R |
| I7 | 23mm | S | 14mm | R | 4mm | R |
| I8 | 17mm | I | 9mm | R | 7mm | R |
| I9 | 21mm | S | 7mm | R | 6mm | R |
| <p>S : Sensible R : Résistante I : Modérément sensible</p> | | | | | | |

Les résultats (**Figure 12**) ont montré que toutes les isolats testés étaient résistants à la tétracycline et à la streptomycine. Cependant, sur les 5 isolats, 3 isolats (J13, I7 et I9) ont montré une sensibilité à l'ampicilline, et les isoats restantes (J18, I8) étaient modérément sensibles.

Ces résultats sont proches de ceux d'une étude menée par **Shazal *et al.* (2014)**, qui ont trouvé que les souches de bactéries lactiques isolées des fientes de poulet de chair étaient résistantes à la tétracycline et à la streptomycine et sensibles à l'ampicilline. Une autre étude de **Nallala et Jeevaratnam. (2015)** ont montré que toutes les souches de bactéries lactiques isolées du tractus gastro-intestinal du poulet étaient résistantes à la streptomycine mais sensibles à l'ampicilline et à la tétracycline. **Hamida *et al.* (2015)** rapportent que la résistance à la tétracycline chez de nombreuses bactéries lactiques est associée à la présence de gènes codant pour la résistance due à des mutations ou à des gènes mobiles.

La résistance aux antibiotiques peut être divisée en deux types : intrinsèque et acquise. La résistance intrinsèque aux antibiotiques est native (naturelle), codée dans les chromosomes et ne peut être transmise à d'autres espèces. Certains composants de la membrane cellulaire rendent les bactéries résistantes aux antibiotiques. Pour le deuxième type (résistance acquise), elle est codée par plasmide et transférable entre espèces, d'où l'émergence et le transfert de gènes du microbiote intestinal naturel (**Davidson *et al.*, 2019**).

La résistance intrinsèque à certains antibiotiques est un avantage pour les probiotiques, où les parois cellulaires des bactéries deviennent plus rigides afin qu'elles ne soient pas endommagées par les antibiotiques. Cependant, la résistance acquise des bactéries lactiques aux antibiotiques n'est pas privilégiée car des gènes peuvent être transférés à des bactéries pathogènes par conjugaison pour les rendre résistantes, mais elle peut avoir des avantages ou de bons effets dans le cas d'une résistance acquise aux probiotiques (**Danielsen et Wind, 2003 ; Daoudou *et al.*, 2011 ; Davidson *et al.*, 2019**).

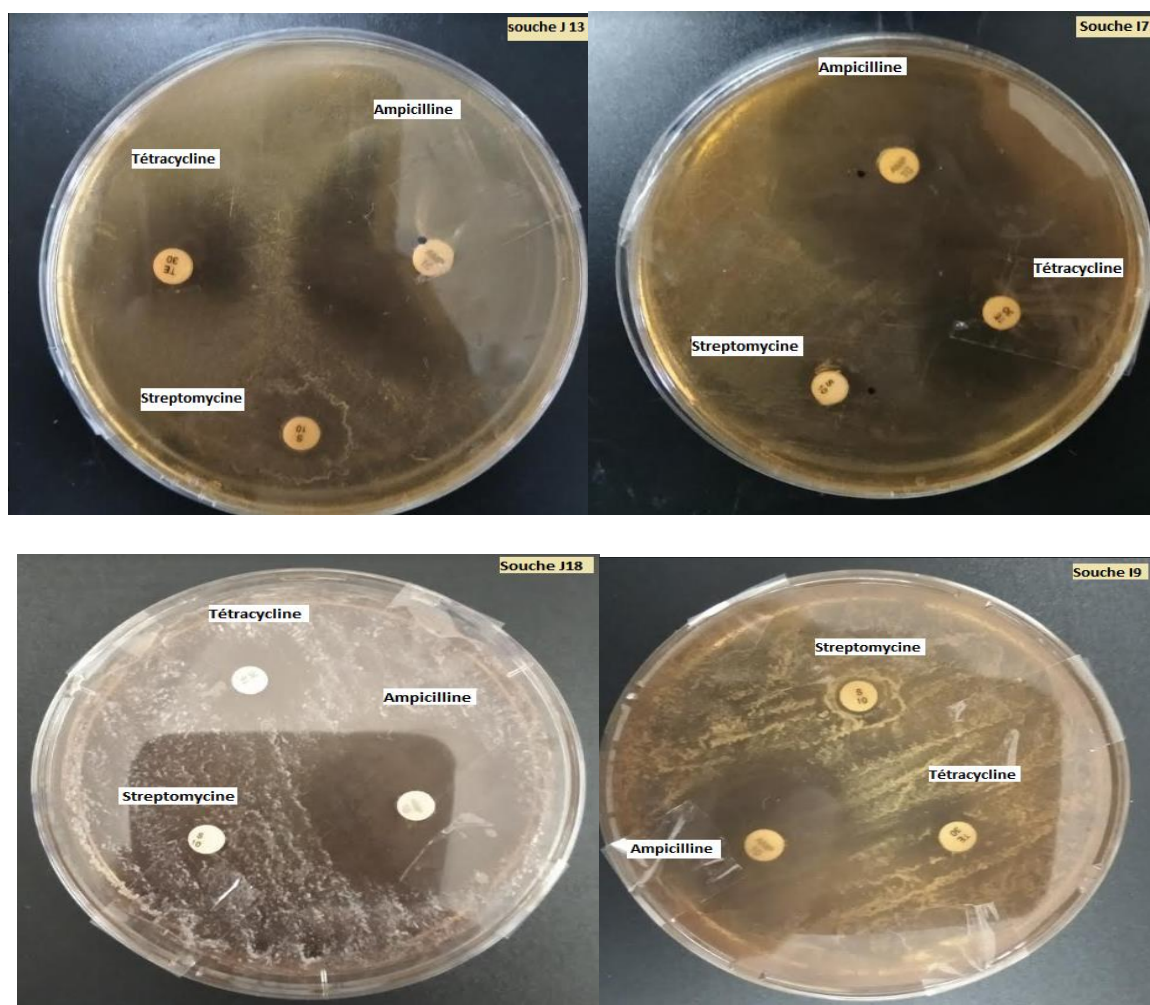


Figure 12. Résistance des isolats (J18, J17, J19, J13) aux antibiotiques (ampicilline, tétracycline, streptomycine).

1.2.4. Etude de l'activité antibactérienne (test des puits)

L'une des principales propriétés des probiotiques est leur effet inhibiteur sur la croissance des bactéries pathogènes, ces effets peuvent survenir en raison de l'accumulation de métabolites primaires tels que les acides organiques (acide lactique et acétique), le peroxyde d'hydrogène, l'éthanol, le diacétyl, l'acétaldéhyde, l'acétone, le dioxyde de carbone, reutéricycline la réutérine et bactériocines (Menconi *et al.*, 2014 ; Hamida *et al.*, 2015).

L'activité antibactérienne de 10 isolats des bactéries lactiques I1, I3, I7, I8, I9, J1, J13, J18, J19 contre trois souches indicatrices (pathogènes) dont *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a été étudiée par la méthode de diffusion sur gélose. Les 10 isolats ont montré une activité antibactérienne contre *E. coli* (9-16 mm de diamètre de la zone d'inhibition), *P. aeruginosa* (8-13 mm) et *S aureus* (11-16 mm). Cependant, la souche J10 n'a montré aucune activité inhibitrice contre *E. coli* et *P.*

aeruginosa (Tableau VI) (Figure 13). Ces résultats sont proches de ceux de Zaidi *et al.* (2017) qui ont montré que les bactéries lactiques isolées de l'intestin de la caille (*Coturnix coturnix Japonica*) ont une activité antibactérienne (zones d'inhibition) contre les bactéries indicatrices *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*.

Tableau VI. Résultats de test des puits de l'activité antibactérienne des isolats lactiques.

| Milieu | souche | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | <i>P. aeruginosa</i> Ø ATCC2785 3 | <i>S. aureus</i> Ø ATCC2 5923 | | | |
|--------------------|--------|---------------------------------|--|--|-----------------------|---|------|
| Mueller -Hinton | I1 | + | 13mm | + | 1mm | + | 11mm |
| | I3 | + | 13 mm | + | 1mm | + | 12mm |
| | I7 | + | 16 mm | + | 09mm | + | 11mm |
| | I8 | + | 15 mm | + | 12mm | + | 12mm |
| | I9 | + | 13 mm | + | 13mm | + | 13mm |
| | J1 | + | 09 mm | + | 11mm | + | 16mm |
| | J10 | - | | + | | - | 14mm |
| | J13 | + | 15 mm | + | 08mm | + | 16mm |
| | J18 | + | 12 mm | + | 12mm | + | 13mm |
| | J19 | + | 16 mm | + | 09mm | + | 14mm |
| | | (+) inhibition | | | (-) aucune inhibition | | |

Ø = Diamètre de la zone d'inhibition

La différence de diamètre de la zone d'inhibition de chaque isolat était basée sur la spécificité des espèces de bactéries lactiques et leur capacité à produire des composants antibactériens, indiquant ainsi que les bactéries pathogènes ont différents degrés de sensibilité aux ces composants antibactériens (Damayanti *et al.*, 2012 ; Goraya *et al.*, 2014).

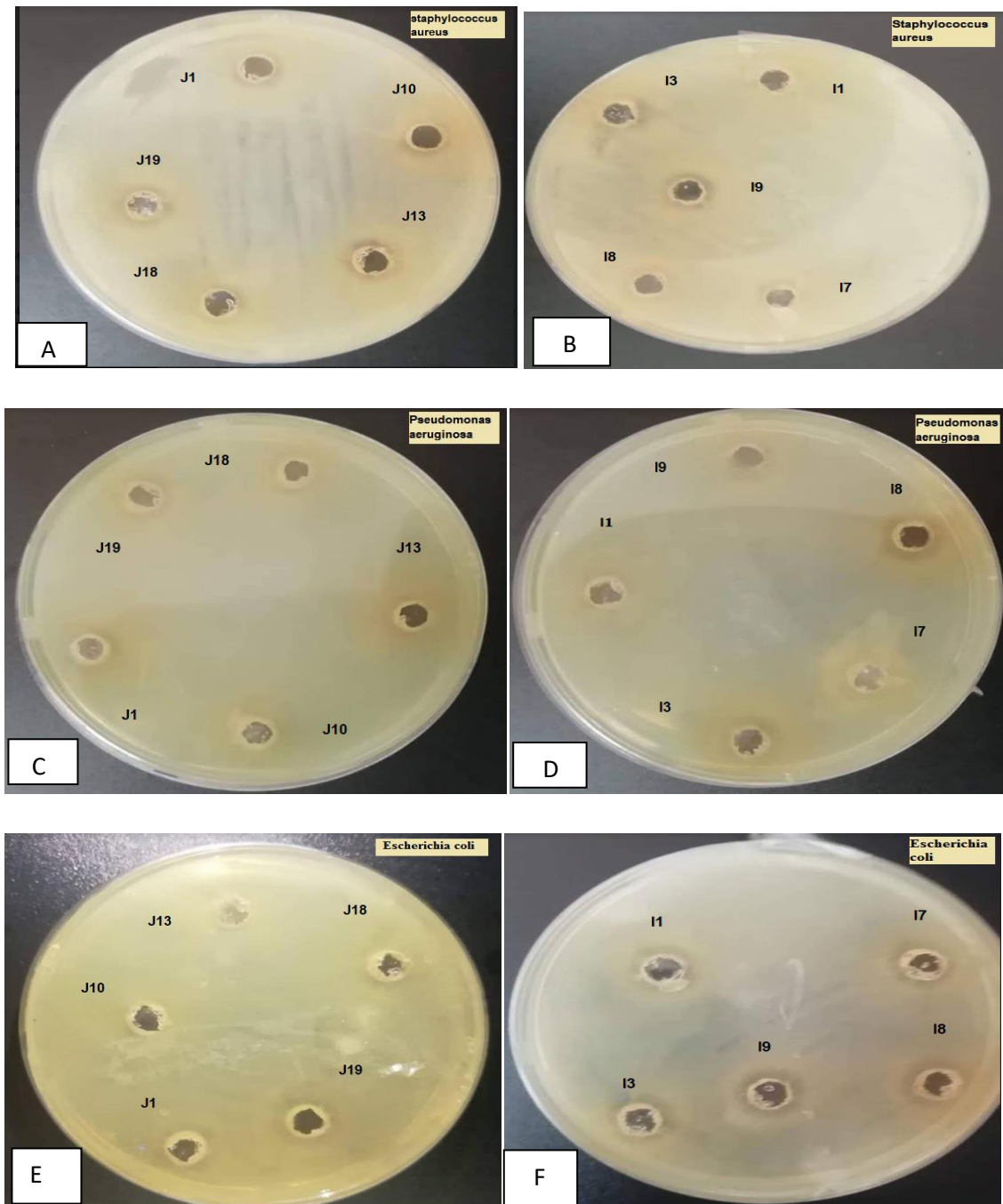


Figure 13. Photos de l'activité antimicrobienne des isolats vis-à-vis de *staphylococcus aureus* ATCC 25923 (A et B), de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (C et D), et de *Escherichia coli* ATCC 25922, (E et F) par la méthode de diffusion des puits.

1.2.5. Etude de l'hydrophobicité

L'hydrophobicité cellulaire est une propriété importante pour les bactéries probiotiques ; c'est une condition préalable à l'adhésion des probiotiques aux cellules épithéliales intestinales afin de coloniser le tractus gastro-intestinal en exerçant des effets bénéfiques, tels que l'exclusion des pathogènes entériques (Dlamini *et al.*, 2019).

L'hydrophobicité des bactéries est principalement due à la nature des composants présents à leur surface, qui peuvent être utilisés pour l'adhésion. Les bactéries avec des surfaces hydrophobes semblent avoir une meilleure adhérence par rapport aux bactéries avec des surfaces hydrophiles (**Burgain et al., 2014 ; Dhameliya et al., 2020**). Les propriétés de surface des cellules microbiennes indiquent que l'hydrophobicité de la surface cellulaire est liée à la présence de composants protéiques, tandis que l'hydrophilie est liée à la présence des polysaccharides (**Darilmaz et al., 2012**).

Les bactéries hydrophobes adhèrent généralement mieux que les bactéries hydrophiles car les bactéries hydrophobes vont plus facilement retirer le film d'eau qui les sépare de la surface pour coloniser et établir plus facilement le contact avec la surface (**Bruinsma et al., 2001 ; Bayouhd et al., 2006**). Cependant, les bactéries hydrophiles limitent l'adhésion bactérienne grâce à des composants de surface cellulaire capables de capter l'eau et de former une couche d'eau plus ou moins dense (**Branger, 2007**).

Dans notre étude, nous avons évalué l'hydrophobicité de la surface cellulaire de dix bactéries lactiques ; I1, I3, I7, I8, I9, J1, J10, J13, J18, J19, vis-à-vis xylène (solvant apolaire reflétant l'hydrophobicité bactérienne),

Le pourcentage d'hydrophobicité est exprimé comme suit : 0-35 % - faible hydrophobicité ; 36-70 % - hydrophobicité modéré ; 71-100 % - hydrophobicité forte (**Grujović et al., 2019**).

Les pourcentages d'hydrophobicité de la surface des cultures obtenus sont illustrés sur la **figure 14**. Ces résultats ont montré que les dix isolats de bactéries lactiques présentaient une hydrophobicité modérée à élevée au xylène, indiquant que tous les isolats étaient hydrophobes. L'isolat J 18 présentait l'hydrophobicité la plus élevée (97,15 %), suivi par l'isolat I7 (89 %), I1 (78,85 %), J 19 (73,81 %).

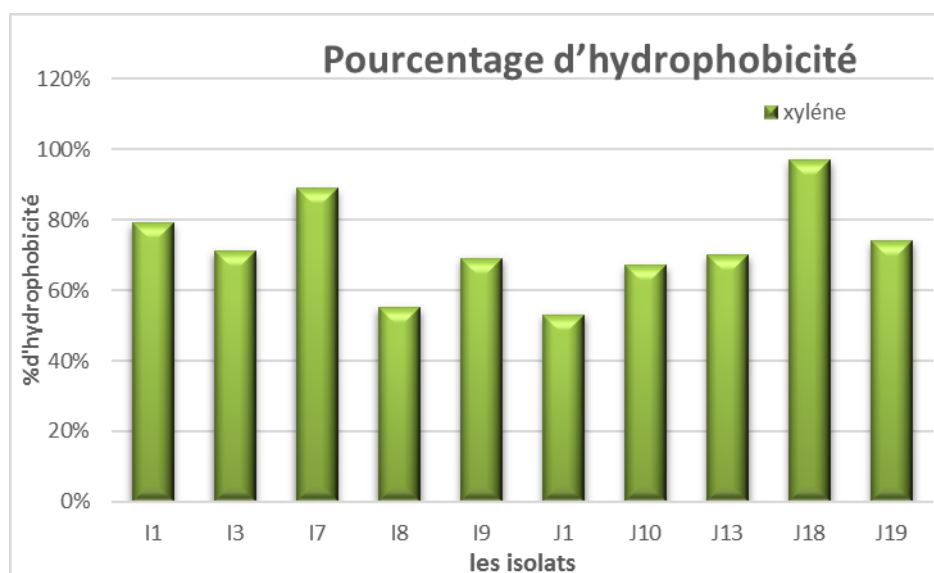


Figure 14. Pourcentage d'hydrophobicité des isolats.

Ces résultats sont proches à ceux de **Sika-Kadji et al. (2022)**, qui ont rapporté que l'hydrophobicité de la surface cellulaire des souches de bactéries lactiques isolées du tractus gastro-intestinal des poulets de chair étaient toutes hydrophobe, avec une hydrophobicité allant de 61 % à 99,75 %.

1.2.6. Etude de l'aptitude à l'autoagrégation et à l'coagrégation

L'agrégation, définie comme le processus d'accumulation réversible des cellules, entraînant naturellement à précipiter dans le milieu dans lequel elles sont en suspension (**Dlamini et al., 2019**). Ce processus repose sur les interactions entre les éléments de surface cellulaire tels que l'acide lipotéichoïque, les protéines de type lectine et les protéines solubles et les phéromones (**Marcotte et al., 2004**).

L'agrégation s'est avérée spécifique à la souche et peut varier entre les cellules d'un même taxon (**de Souza et al., 2019**), l'agrégation bactérienne entre les cellules d'une même souche (autoagrégation, auto-reconnaissance) et entre des souches génétiquement différentes (coagrégation) (**Trunk et al., 2018**).

Les propriétés d'auto-agrégation et la capacité de coagulation avec des agents pathogènes potentiels peuvent être utilisées comme marqueurs de dépistage initiaux pour les probiotiques à administrer aux humains et aux animaux et pour les propriétés de colonisation dans l'intestin (**Kariyawasam et al., 2020**).

Dans notre étude, nous avons évalué la capacité des isolats I1, I3, I7, I8, I9, J1, J10, J13, J18, J19 à s'auto-agréger et co-agréger avec *E. coli* ATCC 25922.

L'auto-agrégation est un critère important pour la formation de biofilm, qui favorise la colonisation et améliore la persistance dans le système gastro-intestinal en empêchant l'adhérence des pathogènes à l'intestin (Tuo *et al.*, 2013 ; Tarique *et al.*, 2022).

L'auto-agrégation peut être constitutive ou induite sous certaines conditions, telles que la pression, la disponibilité en oxygène ou les changements de température, selon la bactérie considérée. Comme l'auto-agrégation protège généralement contre le stress externe, elle peut être bénéfique pour les bactéries environnementales et pathogènes, en particulier dans des conditions telles que la privation de nutriments ou le stress oxydatif (Trunk *et al.*, 2018).

Une forte auto-agrégation est due aux surfaces hydrophobes, tandis que les surfaces hydrophiles sont faiblement auto-agrégées (JAIN *et al.*, 2017).

L'observation microscopique a également confirmé la formation des regroupements cellulaires et la présence des agrégats (Figure 15).

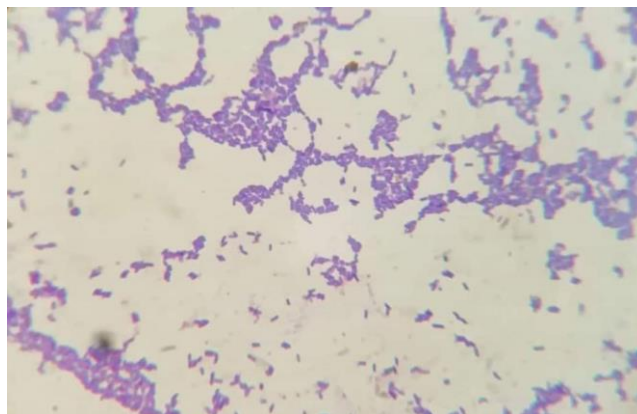


Figure 15. Photomicrographie de l'auto-agrégation d'une souche isolée J18.

Les résultats de l'auto-agrégation sont illustrés par la **figure 16**. Ces résultats montrent que le pourcentage d'auto-agrégation varie fortement, entre 31,07% et 86,30%, avec 4 souches J18, I7, I1, J10 ayant des pourcentages d'auto-agrégation plus élevés ($\geq 50\%$) de 86,30%, 80,49 %, 67,88 %, 52,74 %. Nos résultats sont similaires à ceux d'**Aziz *et al.* (2019)**, qui ont observé que les bactéries lactiques isolées à partir d'intestins de poulet natif (desi) présentaient un pourcentage d'auto-agrégation relativement variable avec 3 souches sur 20 souches.

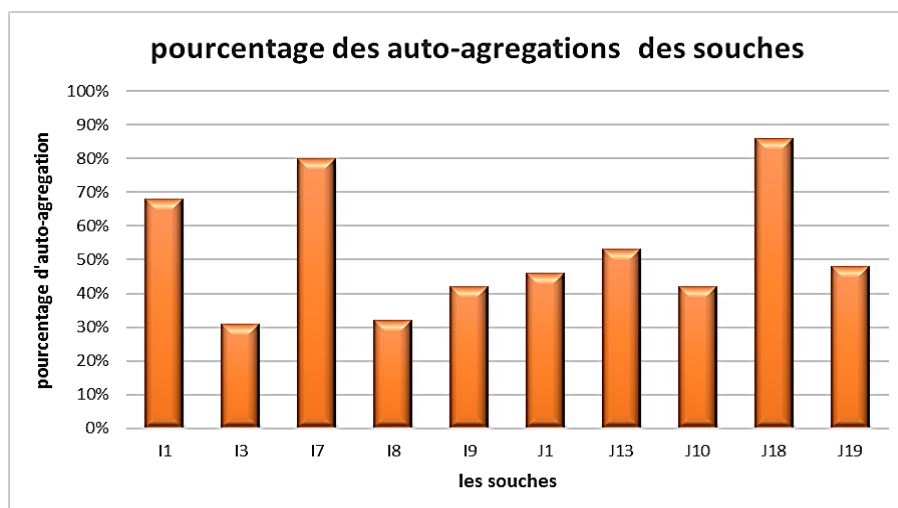


Figure 16. Pourcentages d'Autoagrégation des isolats.

La co-agrégation des bactéries probiotiques avec des pathogènes peut créer un microenvironnement autour de l'agent pathogène, inhiber ou tuer les agents pathogènes en produisant des composants antibactériens tels que l'acide lactique, H₂O₂ et des peptides antimicrobiens (bactériocines), et bloquer encore l'adhésion aux sites de fixation tissulaires (Gilet *et al.*, 2010 ; Tuo *et al.*, 2013 ; Gupta et Sharma, 2017).

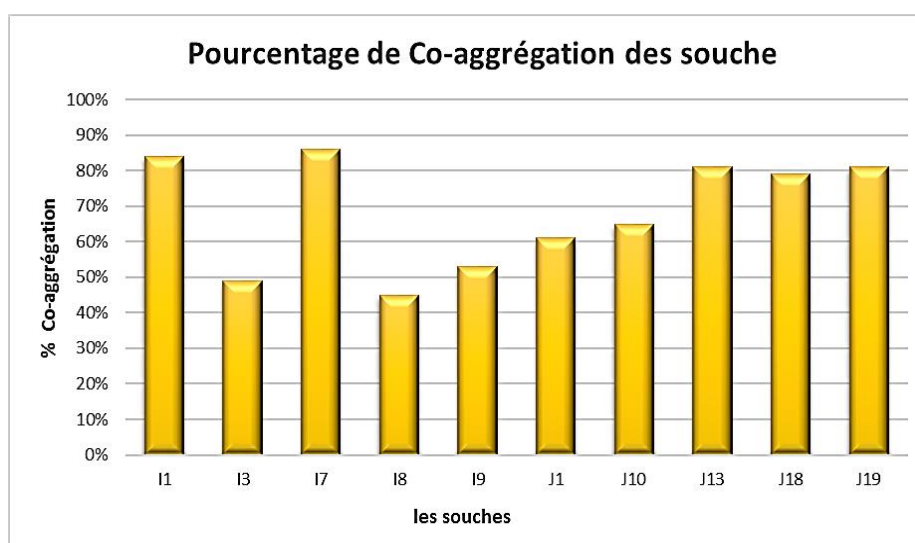


Figure 17. Pourcentage de co-agrégation des isolats avec une souche pathogène.

Concernant nos résultats (**Figure 17**), nous avons remarqué que les isolats avaient une capacité de co-agrégation très élevée contre la souche pathogène *E. coli* ATCC 25922, avec des valeurs comprises entre 45,51% et 86,14%. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par et **Reuben *et al.* (2019)**, ils ont obtenu un pourcentage de co-agrégation de 42,46 à 75,81 % de bactéries lactiques isolées de l'intestin de poulet avec *E. coli*.

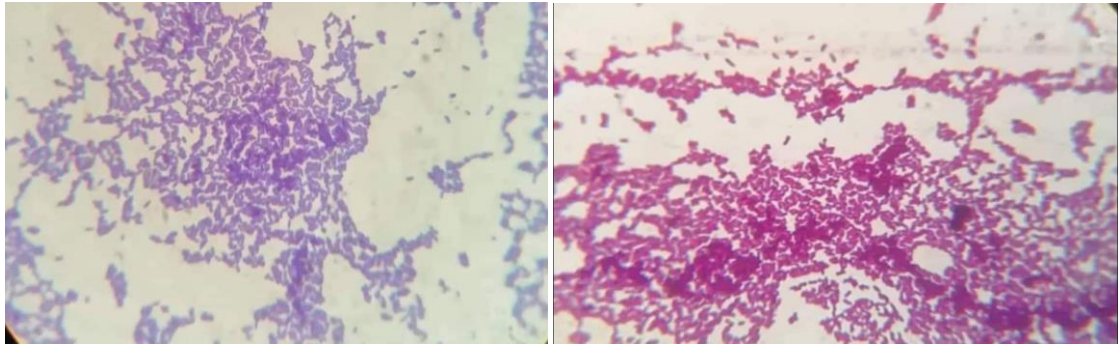


Figure 18. Co-agrégation des souches isolées.

1.2.7. Etude d'adhésion aux cellules épithéliales

L'adhésion aux surfaces biologiques est associée à des interactions ligand-récepteur spécifiques, qui permettent des interactions physiques entre les adhésines (généralement des protéines) et les récepteurs complémentaires (**Di Martino, 2018**).

Dans des conditions défavorables du tube digestif, les bactéries lactiques probiotiques de TGI devraient généralement être capables d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales, formant ainsi une défense contre la colonisation par des micro-organismes pathogènes. La colonisation intestinale par des souches probiotiques peut produire des réponses biologiques bénéfiques, telles que l'exclusion compétitive des agents pathogènes et la modulation immunitaire. Les probiotiques efficaces doivent coloniser au moins temporairement la muqueuse intestinale (**Rinkinen et al., 2003 ; de Souza et al., 2019**).

Dans notre étude, des cellules épithéliales d'origine animale (iléon de poulet) ont été utilisées pour l'adhésion aux cellules bactériennes des isolats suivants : I1, I3, I7, I8, I9, J1, J10, J13, J18, J19. Avant de mettre en contact les cellules bactériennes avec les cellules épithéliales, un test a été effectué au microscope pour confirmer l'absence de contamination microbienne, et des photographies du tissu ont montré que le tissu était dépourvu de contaminants.

Selon les propriétés d'adhésion, les micro-organismes peuvent être divisés en trois catégories : a) souches non adhérentes ; lorsque moins de 5 cellules peuvent adhérer au système cellulaire épithélial intestinal artificiel, b) souches adhérentes : lorsqu'elles adhèrent entre 5 à 40 cellules, c) Souche hautement adhérente, lorsque le niveau d'adhérence dépasse 40 cellules (**Khaneghah et al., 2020**).

L'observation microscopique a clairement montré une adhésion acceptable des isolats I3, I8, I9, J1, J10, J13 et J19 qui adhèrent à 5 à 40 cellules, ce sont donc des bactéries probiotiques

adhérentes. Par contre une adhérence élevée a été observée chez les isolats J18, I7, I1, avec plus de 40 cellules ont adhéérées, indiquant qu'il s'agit de bactéries probiotiques hautement adhérents.

Après l'observation microscopique, nous sommes arrivés à prendre quelques photos représentatives à l'aide d'un microscope optique équipé d'une caméra intégrée (**Figure 19**).

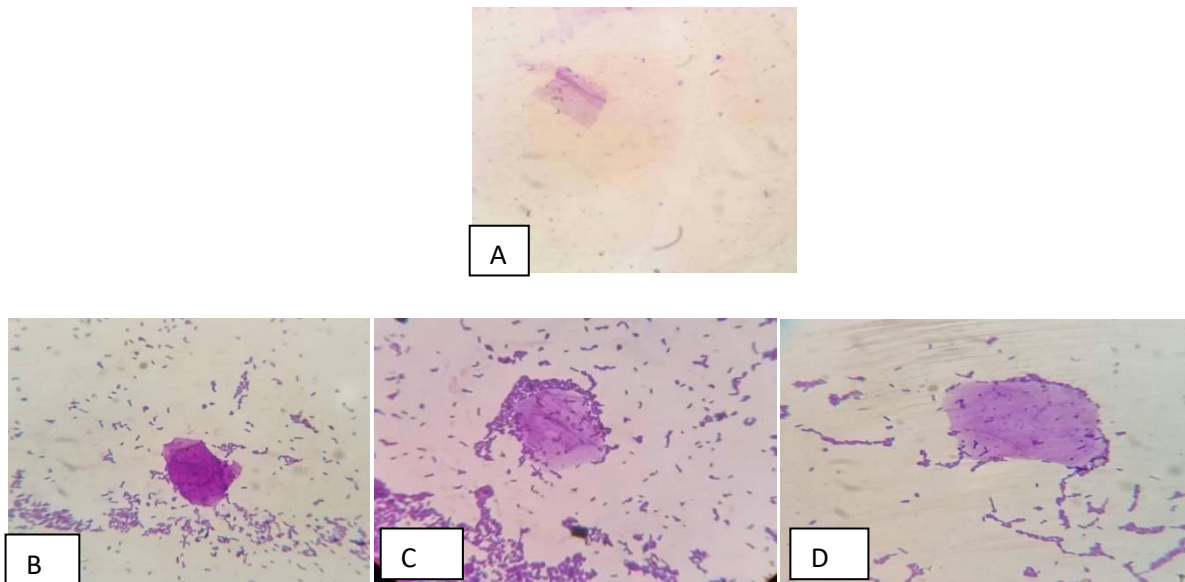


Figure 19. Adhésion des isolats aux cellules épithéliales (Gx100).

(A) : Cellule épithéliale saine, (B) : Cellules bactériennes (I7) adhérentes, (C) : Cellules bactériennes (J₁₈) (D) : Cellules bactériennes(I₁) adhérentes.

1.3. Autres tests :

1.3.1. Tolérance aux phénols

Les phénols sont des métabolites toxiques libérés lors de la digestion. Pour un isolat soit probiotique, elle doit tolérer des quantités limitées de composants phénoliques dans le tractus gastro-intestinal (**Reuben et al., 2019**).

D'après les résultats présentés sur la **figure 20**, nous avons remarqué que tous les isolats testés avaient une bonne résistance au phénol à 0,4% après 6 heures d'incubation. Les isolats (J18, I7, J19, J13, I9, I3) ont montré une forte résistance et les taux de survie ont atteint respectivement 100 %, 98,9 %, 93,4 %, 91,7 %, 91,1 % et 85,5 %.

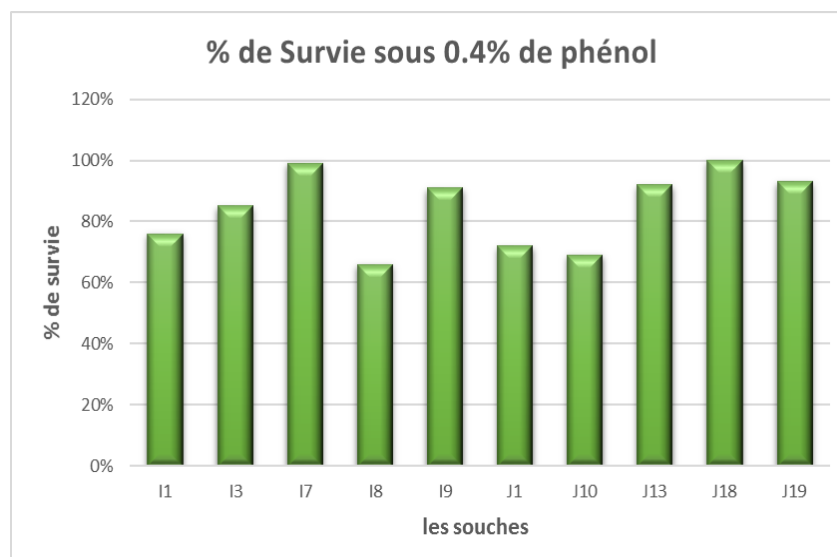


Figure 20. Pourcentage de survie des isolats dans 0.4% du phénol.

Les résultats obtenus par **Gupta et Bajaj (2018)** étaient proches à ceux rapportés précédemment, et la tolérance au phénol des souches de bactéries lactiques isolées était variable, avec des taux de survie compris entre 70 % et 91 %. Une autre étude de **Reuben *et al.* (2019)** ont montré que toutes les souches de *Lactobacillus* isolées du tractus gastro-intestinal des poulets de chair étaient tolérantes à 0,4 % de phénol.

Les phénols sont des composants toxiques formés par la dégradation bactérienne de divers acides aminés aromatiques dérivés de protéines alimentaires ou produits de manière endogène. Sa biodisponibilité dans l'intestin varie considérablement en fonction de facteurs tels que l'alimentation, les protéines endogènes et la composition du microbiote intestinal. Les composés phénoliques inhibent diverses espèces bactériennes par leurs effets bactériostatiques, et peuvent ainsi affecter la diversité et l'activité métabolique de la communauté microbienne intestinale, principalement en formant des composés inhibiteurs plus puissants tels que les acides phénoliques, résultant des transformations microbiennes des flavonols, des flavan-3-ols, des flavones et des anthocyanines provenant de l'alimentation. De plus, la plupart des polyphénols traversent le côlon et peuvent être transformés en acides gras à chaîne courte par de nombreuses bactéries intestinales, régulant ainsi la composition du microbiote intestinal (**Jena *et al.*, 2013 ; Fonseca *et al.*, 2021**).

1.3.2. Etude de la résistance à la toxicité du peroxyde d'hydrogène

Les résultats de la résistance des isolats au peroxyde d'hydrogène (0,7 %) sont présentés par la **figure 21** et on constate que les isolats testés ont des taux de survie relativement variables.

L'isolat J18 avait le taux de survie le plus élevé de 88,98 %, suivie des isolats : I9 (76,9 %), J13 (70,8,7 %), J10 (68,2 %), J1 (68 %), J19 (61,1 %), I3 (52,2 %) et I8 (50,4 %). Les isolats I7 et I1 avaient les taux de survie les plus faibles, 42,7 % et 36,2 %, respectivement.

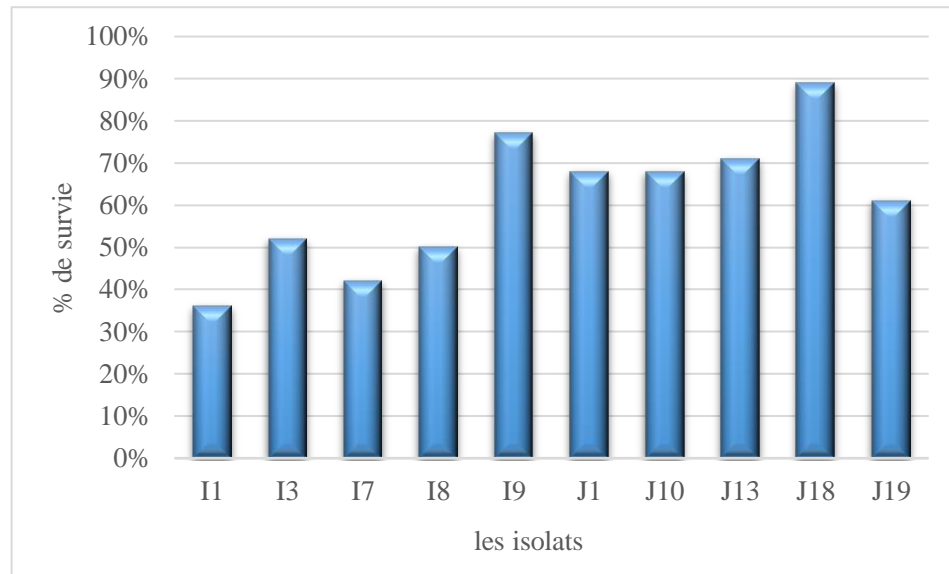


Figure 21. Pourcentage de survie des isolats en présence de 0.7% de peroxyde d'hydrogène.

Les résultats obtenus par **Li et al. (2012)** ont rapporté que 11 souches de *Lactobacillus plantarum* présentaient une tolérance au peroxyde d'hydrogène après 8 heures d'incubation. Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant faible qui traverse facilement les membranes cellulaires et cause des dommages oxydatifs à l'ADN, aux protéines (oxydation du sulfhydryle) et aux lipides (**Brioukhanov et Netrusov, 2007 ; Kodali et Sen, 2008**). Les bactéries possédant une catalase sont très résistantes à H₂O₂, mais en raison de l'absence de cette activité, les bactéries lactiques présentent généralement une résistance plus faible à H₂O₂ (**Kumari et al., 2018 ; Feng et Wang, 2020**).

Selon **Amanatidou et al. (2001)**, les bactéries lactiques peuvent synthétiser le système de couplage NADH oxydase/NADH peroxydase qui équilibre le rapport NAD/NADH, et catalyse la réduction de O₂ en H₂O₂ et la décomposition de H₂O₂ en H₂O dans le but de la protection. En plus, certaines études ont suggéré que l'expression des gène thioredoxine ou uvrA pourrait contribuer à la survie des bactéries lactiques en présence de H₂O₂ (**Mu et al., 2018**).



Conclusion

Notre étude a porté sur l'isolement et la purification des isolats à caractéristiques probiotiques isolées à partir du tube digestif de la caille japonaise (*C. coturnix japonica*).

Les caractéristiques morphologiques et physiologiques des bactéries, y compris la coloration de Gram et la production de catalase, ont indiqué que les 10 isolats bactériens testés étaient des bactéries lactiques.

D'après les résultats de l'étude des aptitudes probiotiques in vitro, nous avons pu déduire que Les isolats J18 et I7 avaient un meilleur potentiel en tant que candidats probiotiques par rapport aux autres isolats dans la plupart des tests. Parmi ceux-ci, nous avons noté une tolérance significative aux conditions bucco-gastro-intestinales, à savoir l'acidité, l'isolat J18 a montré un pourcentage de 56,1%, tandis que I7 (71,4%), le pourcentage de sels biliaires J18 était de 98,93% et I7 était de 63,1%. De même que, les deux isolats étaient résistants à *Escherichia coli* (J18 12 mm et I7 16 mm de diamètre de la zone d'inhibition), *Pseudomonas aeruginosa* (J18 12 mm et i7 9 mm) et *Staphylococcus aureus* (j 18 13 mm et I7 11 mm) avec une hydrophobicité élevée J18 (97,15 %) et I7 (89 %), un pourcentage d'auto-agrégation et de co-agrégation (≥ 79 %) et une bonne adhérence des cellules épithéliales. De plus, ils présentent une bonne résistance aux antibiotiques tels que la tétracycline et la streptomycine.

Notre étude montre que le tube digestif des volailles, en particulier la caille japonaise, est une bonne source de bactéries lactiques isolées avec de bonnes propriétés probiotiques.



***Références
bibliographique***



- Abdisa, K., Atalel, D., Berhanu, G., & Kandi, V. (2022).** Probiotics in Health and Disease: A Review of Emerging Evidence of Potential Benefits and Harm. *American Journal of Microbiological Research*, 10(1), 23-33.
- Alexandre, Y., Le Blay, G., Boisramé-Gastrin, S., Le Gall, F., Héry-Arnaud, G., Gouriou, S., ... & Le Berre, R. (2014).** Probiotics: a new way to fight bacterial pulmonary infections?. *Médecine et maladies infectieuses*, 44(1), 9-17.
- Ali, A., Ponnampalam, E. N., Pushpakumara, G., Cottrell, J. J., Suleria, H. A., & Dunshea, F. R. (2021).** Cinnamon: A natural feed additive for poultry health and production—A review. *Animals*, 11(7), 2026.
- Ali, D. A., Al-Shuhaib, M. B. S., Farhadi, G., Al-Kafajy, F. R., Al-Thuwaini, T. M., & Esmailizadeh, A. (2021).** Detection of a novel single nucleotide polymorphism in IGF2 gene with a negative impact on egg production and body weight in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1-9.
- Almargot, J. (1982).** L'appareil digestif et ses annexes. Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires. Edition: Le point vétérinaire, 15-32.
- Alsaeed, I. (2017).** ABOUT PREBIOTICS AND PROBIOTICS.
- Amanatidou, A., Smid, E. J., Bennik, M. H., & Gorris, L. G. (2001).** Antioxidative properties of *Lactobacillus sake* upon exposure to elevated oxygen concentrations. *FEMS Microbiology Letters*, 203(1), 87-94.
- Anandharaj, M., Sivasankari, B., & Parveen Rani, R. (2014).** Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on hypercholesterolemia: a review. *Chinese Journal of Biology*, 2014.
- Anee, I. J., Alam, S., Begum, R. A., Shahjahan, R. M., & Khandaker, A. M. (2021).** The role of probiotics on animal health and nutrition. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 82(1), 1-16.
- Aziz, G., Fakhar, H., ur Rahman, S., Tariq, M., & Zaidi, A. (2019).** An assessment of the aggregation and probiotic characteristics of *Lactobacillus* species isolated from native (desi) chicken gut. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4), 846-857.



- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabes et kabyles". *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 30-37
- Baer, J., Lansford, R., & Cheng, K. (2015).** Japanese quail as a laboratory animal model. In *Laboratory animal medicine* (pp. 1087-1108). Academic Press.
- Baykalir, Y., & Aslan, S. (2020).** Phenotypic correlations between egg quality traits, albumen pH and ovalbumin levels in four varieties of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 10(3), 069-075.
- Bayouhdh, S., Othmane, A., Bettaieb, F., Bakhrouf, A., Ouada, H. B., & Ponsonnet, L. (2006).** Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Materials Science and Engineering: C*, 26(2-3), 300-305.
- Beldarrain-Iznaga, T., Villalobos-Carvajal, R., Sevillano-Armesto, E., & Leiva-Vega, J. (2021).** Functional properties of *Lactobacillus casei* C24 improved by microencapsulation using multilayer double emulsion. *Food Research International*, 141, 110136.
- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012).** Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.
- Bindari, Y. R., & Gerber, P. F. (2022).** Centennial Review: Factors affecting the chicken gastrointestinal microbial composition and their association with gut health and productive performance. *Poultry Science*, 101(1), 101612.
- Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P., ... & Weber, P. (2013).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations [Internet], 19, 133-142.
- Borda-Molina, D., Roth, C., Hernández-Arriaga, A., Rissi, D., Vollmar, S., Rodehutschord, M., ... & Camarinha-Silva, A. (2020).** Effects on the ileal microbiota of phosphorus and calcium utilization, bird performance, and gender in Japanese quail. *Animals*, 10(5), 885.

- Bostami, A. B. M., Islam, R. M. M., Ahmed, S. T., Mun, H. S., Hong, S. B., & Yang, C. J. (2015).** Effect of beneficial microorganisms on growth performance, mortality and intestinal microflora in broilers. *Global Journal of Microbiology Research*, 3(2), 126-133.
- Bouridane, H., Sifour, M., Idoui, T., Annick, L., & Thonard, P. (2016).** Technological and probiotic traits of the lactobacilli isolated from vaginal tract of the healthy women for probiotic use. *Iranian Journal of Biotechnology*, 14(3), 192-201.
- Brachet, M., Brame, C., Couilleau, L., Dennery, G., Experton, C., Filliat, C., ... & Souillard, R. (2018).** La santé des volailles en agriculture biologique.
- Branger A. (2007).** *Microbiochimie et Alimentation*, Educagri Editions, Paris, P137.
- Brioukhanov, A. L., & Netrusov, A. I. (2007).** Aerotolerance of strictly anaerobic microorganisms and factors of defense against oxidative stress: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 43(6), 567-582.
- Bruinsma, G. M., Van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (2001).** Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials*, 22(24), 3217-3224.
- Burgain, J., Scher, J., Francius, G., Borges, F., Corgneau, M., Revol-Junelles, A. M., ... & Gaiani, C. (2014).** Lactic acid bacteria in dairy food: surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in colloid and interface science*, 213, 21-35.
- ⌘
- Cano, F. G., Reviriego, F., Espinosa, A. A., Collado, C. S., & Rivero, M. (2012).** Interactive avian anatomy: Functional and clinical aspects. *Vet Anat*.
- Cizeikiene, D., & Jagelaviciute, J. (2021).** Investigation of antibacterial activity and probiotic properties of strains belonging to *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genera for their potential application in functional food and feed products. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(5), 1387-1403.
- Clavijo, V., & Flórez, M. J. V. (2018).** The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. *Poultry science*, 97(3), 1006-1021.
- Crawford, R. D. (1990).** Origin and history of poultry species. *Poultry breeding and genetics*.

Damayanti, E., Herdian, H., Angwar, M., Febrisiantosa, A., & Istiqomah, L. (2012). Lactic acid bacterial screening from gastrointestinal digestive tract of native and broiler chicken for probiotic candidate purposes. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 37(3), 168-175.

Đ

Danielsen, M., & Wind, A. (2003). Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *International journal of food microbiology*, 82(1), 1-11.

Daoudou, B., Leopold, T. N., Augustin, M., & Moses, M. C. (2011). Assessment of physiological properties of some lactic acid bacteria isolated from the intestine of chickens use as probiotics and antimicrobial agents against enteropathogenic bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, (8), 33-40.

Daoudou, B., Leopold, T. N., Augustin, M., & Moses, M. C. (2011). Assessment of physiological properties of some lactic acid bacteria isolated from the intestine of chickens use as probiotics and antimicrobial agents against enteropathogenic bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, (8), 33-40.

Darilmaz, D. O., Beyatli, Y., & Yuksekdog, Z. N. (2012). Aggregation and hydrophobicity properties of 6 dairy propionibacteria strains isolated from homemade Turkish cheeses. *Journal of food science*, 77(1), M20-M24.

Davidson, A. L., Lase, E., Lister, I. N. E., & Fachrial, E. (2019, July). JProbiotic activity of lactic acid bacteria isolated from several commercial fermentation product in Medan, North Sumatera. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1230, No. 1, p. 012060). IOP Publishing.

De Souza, B. M. S., Borgonovi, T. F., Casarotti, S. N., Todorov, S. D., & Penna, A. L. B. (2019). *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus fermentum* strains isolated from mozzarella cheese: probiotic potential, safety, acidifying kinetic parameters and viability under gastrointestinal tract conditions. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(2), 382-396.

Dhameliya, H. A., Mesara, S. N., Mali, H., Shah, C., & Subramanian, R. B. (2020). Biochemical and molecular characterization of lactic acid bacteria (LAB) isolated from fermented pulses. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 44(5), 1279-1286.

- Di Martino, P. (2018).** Bacterial adherence: much more than a bond. *AIMS microbiology*, 4(3), 563.
- Diaz Carrasco, J. M., Casanova, N. A., & Fernández Miyakawa, M. E. (2019).** Microbiota, gut health and chicken productivity: what is the connection?. *Microorganisms*, 7(10), 374.
- Dlamini, Z. C., Langa, R. L., Aiyegoro, O. A., & Okoh, A. I. (2019).** Safety evaluation and colonisation abilities of four lactic acid bacteria as future probiotics. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(2), 397-402.
- Dlamini, Z. C., Langa, R. L., Aiyegoro, O. A., & Okoh, A. I. (2019).** Safety evaluation and colonisation abilities of four lactic acid bacteria as future probiotics. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(2), 397-402.
- Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., ... & Collins, J. K. (2001).** In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 386s-392s.
- Dusart L. (2015).** Quelques rappels sur les mécanismes physiologiques. *Alimentation des volailles en agriculture biologique*. chapitre 2 In *Cahier de volaille*: 8-9.
- F**
- Feng, T., & Wang, J. (2020).** Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: A systematic review. *Gut Microbes*, 12(1), 1801944.
- Feye, K. M., Baxter, M. F. A., Tellez-Isaias, G., Kogut, M. H., & Ricke, S. C. (2020).** Influential factors on the composition of the conventionally raised broiler gastrointestinal microbiomes. *Poultry science*, 99(2), 653-659.
- Fong, F. L. Y., Shah, N. P., Kirjavainen, P., & El-Nezami, H. (2016).** Mechanism of action of probiotic bacteria on intestinal and systemic immunities and antigen-presenting cells. *International Reviews of Immunology*, 35(3), 179-188.
- Fonseca, H. C., de Sousa Melo, D., Ramos, C. L., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2021).** Probiotic properties of lactobacilli and their ability to inhibit the adhesion of enteropathogenic bacteria to Caco-2 and HT-29 cells. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 13(1), 102-112.

Forhada, M. H., SM, K. R., Rahmana, S., Saikota, F. K., & Ch, K. (2016). Probiotic properties analysis of isolated lactic acid bacteria from buffalo milk. *Archives of clinical microbiology*, 7(1), 0-0.



Gabriel, I., Lessire, M., Mallet, S., & Guillot, J. F. (2006). Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. *World's poultry science journal*, 62(3), 499-511.

Gabriel, I., Mallet, S., & Sibille, P. (2005). La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal.

Gasbarrini, G., Bonvicini, F., & Giamenzi, A. (2016). Probiotics History. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 50, S116–S119.

Gil, N. F., Martinez, R. C., Gomes, B. C., Nomizo, A., & De Martinis, E. C. (2010). Vaginal lactobacilli as potential probiotics against *Candida* spp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 6-14.

Gogineni, V. K., Morrow, L. E., & Malesker, M. A. (2013). Probiotics: mechanisms of action and clinical applications. *J Prob Health*, 1(1), 1-11.

Gogineni, V. K., Morrow, L. E., Gregory, P. J., & Malesker, M. A. (2013). Probiotics: history and evolution. *J Anc Dis Prev Rem*, 1(2), 1-7.

Goraya, M. U., Ashraf, M., Ur-Rahman, S., Raza, A., & Habib, A. (2013). Determination of antibacterial activity of bacteriocins of lactic acid producing bacteria. *Journal of Infection and Molecular Biology*, 1, 9-12.

Greeshma, K., Deokar, C. D., Raghuvanshi, K. S., & Bhalerao, V. K. (2022). Morphological and Molecular Characterization of Isolated Probiotic Yeast. *International Journal of Bio-Resource & Stress Management*, 13(5).

Grond, K., Sandercock, B. K., Jumpponen, A., & Zeglin, L. H. (2018). The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds. *Journal of Avian Biology*, 49(11), e01788.

- Grujović, M. Ž., Mladenović, K. G., Nikodijević, D. D., & Čomić, L. R. (2019).** Autochthonous lactic acid bacteria—presentation of potential probiotics application. *Biotechnology letters*, 41(11), 1319-1331.
- Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., ... & Le MAIR, T. (2008).** Recommandation Pratique: Probiotiques et Prébiotiques. *Organisation mondiale de gastroentérologie*, 1, 3-17.
- Guerin, J. L., & Boissieu, C. (2008).** L'autopsie en pathologie aviaire. *Ecole nationale vétérinaire de Toulouse. Mise à jour*, 30(08).
- Guérin, J. L., Balloy, D., & Villate, D. (2012).** *Maladies des volailles* (pp. 576-p). France Agricole.
- Gupta, A., Sharma, N. (2017).** Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria- *Pediococcus acidilactici* Ch-2 isolated from Chuli- a traditional apricot product of Himalayan region for the production of novel bioactive compounds with special therapeutic properties. *Journal of Food: Microbiology, Safety & Hygiene*, 02(01), 1–11.
- Gupta, M., & Bajaj, B. K. (2018).** Functional characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from kalarei and development of probiotic fermented oat flour. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(4), 654-661.
- ff*
- Hamida, F., Wiryawan, K. G., & Meryandini, A. (2015).** Selection of lactic acid bacteria as probiotic candidate for chicken. *Media peternakan*, 38(2), 138-144.
- Hena, S. A., Sonfada, M. L., Danmaigoro, A., Bello, A., & Umar, A. A. (2012).** Some comparative gross and morphometrical studies on the gastrointestinal tract in pigeon (*Columba livia*) and Japanese quail (*Coturnix japonica*).
- Hosseini, F., Mehraei Hamzekolaei, M. H., Zamani Moghaddam, A. K., Arabha, H., & Tohidifar, S. S. (2017).** Normal ultrasonographic images of reproductive organs of female Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*): a laboratory animal model. *Laboratory animals*, 51(1), 75-84.

I

- JAIN, N., MEHTA, A., & BHARTI, V. (2017).** Screening, characterization, and in vitro evaluation of probiotic properties of Lactobacillus strains. *SCREENING*, 10(8).
- Jannah, S. N., Dinoto, A., Wiryawan, K. G., & Rusmana, I. (2014).** Characteristics of lactic acid bacteria isolated from gastrointestinal tract of Cemani chicken and their potential use as probiotics. *Media Peternakan*, 37(3), 182-189.
- Jannah, S. N., Saraswati, T. R., Handayani, D., & Pujiyanto, S. (2018, May).** Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Gastrointestinal Tract of “Ayam Kampung” Chicken Against Food Pathogens. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1025, No. 1, p. 012082). IOP Publishing.
- Jena, P. K., Trivedi, D., Thakore, K., Chaudhary, H., Giri, S. S., & Seshadri, S. (2013).** Isolation and characterization of probiotic properties of lactobacilli isolated from rat fecal microbiota. *Microbiology and immunology*, 57(6), 407-416.
- JOFFIN, J., & LEYRAL, G. (2006).** *Microbiologie technique*. 4ème édition, centre régional de documentations pédagogique d’Aquitain.

K

- Kadraoui, S., Mennani, A., & Gaouar, S. B. S. (2020).** Phenotypic and morphometric characterization of the various strains of quail raised in Algeria. *Genetics & Biodiversity Journal*, 4(1), 81-92.
- Kareb, O., & Aïder, M. (2019).** Whey and its derivatives for probiotics, prebiotics, synbiotics, and functional foods: a critical review. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(2), 348-369.
- Kareppa, B. M. 12.** Acid and Bile Tolerance of Lactic Acid Bacteria Isolated from Chicken GIT.
- Kariyawasam, K. M. G. M. M., Yang, S. J., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2020).** Probiotic properties of Lactobacillus brevis KU200019 and synergistic activity with fructooligosaccharides in antagonistic activity against foodborne pathogens. *Food Science of Animal Resources*, 40(2), 297.

- Kers, J. G., Velkers, F. C., Fischer, E. A., Hermes, G. D., Stegeman, J. A., & Smidt, H. (2018).** Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens. *Frontiers in microbiology*, 9, 235.
- Khan, I. H. (2014).** IDENTIFICATION OF MICROBIAL FLORA FR.
- Khaneghah, A. M., Abhari, K., Eş, I., Soares, M. B., Oliveira, R. B., Hosseini, H., ... & Sant'Ana, A. S. (2020).** Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 95, 205-218.
- Kiymaci, M. E., Altanlar, N., Gumustas, M., Ozkan, S. A., & Akin, A. (2018).** Quorum sensing signals and related virulence inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by a potential probiotic strain's organic acid. *Microbial Pathogenesis*, 121, 190-197.
- Ko, H. I., Jeong, C. H., Hong, S. W., Eun, J. B., & Kim, T. W. (2022).** Optimizing Conditions in the Acid Tolerance Test for Potential Probiotics Using Response Surface Methodology. *Microbiology Spectrum*, e01625-22.
- Kodali, V. P., & Sen, R. (2008).** Antioxidant and free radical scavenging activities of an exopolysaccharide from a probiotic bacterium. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 3(2), 245-251.
- Kogut, M. H., & Zhang, G. (2022).** Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals.
- Kohl, K. D. (2012).** Diversity and function of the avian gut microbiota. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(5), 591-602.
- Kumari, A., Angmo, K., Monika, S., & Bhalla, T. C. (2018).** Functional and technological application of probiotic *L. casei* PLA5 in fermented soymilk. *International Food Research Journal*, 25(5), 2164-2172.

ℒ

- Lanotte, P., & Isnard, C. (2016).** Du prélèvement à la caractérisation des souches. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*, 15.
- Larbier, M., & Leclercq, B. (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. *Nutrition et alimentation des volailles*, 1-358.

- Lewis, W. B., Moore, F. R., & Wang, S. (2017).** Changes in gut microbiota of migratory passerines during stopover after crossing an ecological barrier. *The Auk: Ornithological Advances*, 134(1), 137-145.
- Li, M., Wang, Y., Cui, H., Li, Y., Sun, Y., & Qiu, H. J. (2020).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from the gastrointestinal tract of a wild boar as potential probiotics. *Frontiers in veterinary science*, 7, 49.
- Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., & Wang, Q. (2012).** Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food chemistry*, 135(3), 1914-1919
- Lin, T. Y., & Chien, M. F. C. (2007).** Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. *Food Chemistry*, 100(4), 1419-1423.
- Lore, T. A., Mbugua, S. K., & Wangoh, J. (2005).** Enumeration and identification of microflora in suusac, a Kenyan traditional fermented camel milk product. *LWT-Food Science and Technology*, 38(2), 125-130.
- M*
- Majó, N., & Dolz, R. (2012).** Autopsie des volailles: diagnostic macroscopique et méthodes de prélèvements. *Les éditions du Point Vétérinaire*, 4-13.
- Maki, J. J., Klima, C. L., Sylte, M. J., & Looft, T. (2019).** The microbial pecking order: Utilization of intestinal microbiota for poultry health. *Microorganisms*, 7(10), 376.
- Marcotte, H., Ferrari, S., Cesena, C., Hammarström, L., Morelli, L., Pozzi, G., & Oggioni, M. R. (2004).** The aggregation-promoting factor of *Lactobacillus crispatus* M247 and its genetic locus. *Journal of applied microbiology*, 97(4), 749-756.
- Marie-Claire, D. G., Ernest, Z. N. G., Brahima, K., & Koffi, K.** Effets de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* sur la croissance, la ponte et la qualité des œufs de la caille *Coturnix japonica* en élevage en Côte d'Ivoire.
- Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2018).** The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut pathogens*, 10(1), 1-20.
- Menassé V. et milani G. (2004).** L'élevage rentable des cailles (Ed. De Vecchi S.A) :5-119.

- Menconi, A., Kallapura, G., Latorre, J. D., Morgan, M. J., Pumford, N. R., Hargis, B. M., & Tellez, G. (2014).** Identification and characterization of lactic acid bacteria in a commercial probiotic culture. *Bioscience of microbiota, food and health*, 33(1), 25-30.
- Mezaini, A., Chihib, N. E., Dilmi Bouras, A., Nedjar-Arroume, N., & Hornez, J. P. (2009).** Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. *Journal of environmental and public health*, 2009.
- Mir, S. H., & Lone, S. A. (2018).** Role of gut microbes in avian energy metabolism. *Int J Avian & Wildlife Biol*, 3(2), 109-110.
- Mondry, R. (2016).** L'élevage des cailles en zone tropicale. CTA.
- Mu, G., Gao, Y., Tuo, Y., Li, H., Zhang, Y., Qian, F., & Jiang, S. (2018).** Assessing and comparing antioxidant activities of lactobacilli strains by using different chemical and cellular antioxidant methods. *Journal of Dairy Science*, 101(12), 10792-10806.
- Mureşan, A., Sârbu, I., Pelinescu, D., Ionescu, R., Csutak, O., Stoica, I., & Vassu-Dimov, T. (2018).** In vitro selection of some lactic acid bacteria strains with probiotic potential. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(1), 13327.
- Musikasang, H., Tani, A., & Maneerat, S. (2009).** Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(8), 1337-1345.

ℵ

- Nallala, V., & Jeevaratnam, K. (2015).** Molecular characterization of bacteriocinogenic, antifungal and probiotic lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal tract. *Advances in Microbiology*, 5(09), 644.
- Nasar, A., Rahman, A., Hoque, N., Talukder, A. K., & Das, Z. C. (2016).** A survey of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) farming in selected areas of Bangladesh. *Veterinary world*, 9(9), 940.
- Nataraj, B. H., & Mallappa, R. H. (2021).** Antibiotic resistance crisis: an update on antagonistic interactions between probiotics and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Current Microbiology*, 78(6), 2194-2211.

○

O'Hara, A. M., & Shanahan, F. (2007). Mechanisms of action of probiotics in intestinal diseases. *TheScientificWorldJournal*, 7, 31-46.

Oyewole, O. F., Maria, C. O., Tope, P. S., & Funmi, O. O. (2018). In vitro Study of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from The Gut of Chickens in Abeokuta, Nigeria. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 58(1).

P

Padmavathi, T., Bhargavi, R., Priyanka, P. R., Niranjana, N. R., & Pavitra, P. V. (2018). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria and production of amylase and its partial purification. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 357-362.

Pan, D., & Yu, Z. (2014). Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut microbes*, 5(1), 108-119.

Parlindungan, E., Lugli, G. A., Ventura, M., van Sinderen, D., & Mahony, J. (2021). Lactic acid bacteria diversity and characterization of probiotic candidates in fermented meats. *Foods*, 10(7), 1519.

Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M., & Gil, A. (2019). Mechanisms of action of probiotics. *Advances in nutrition*, 10(suppl_1), S49-S66.

Poynter, G., Huss, D., & Lansford, R. (2009). Japanese quail: an efficient animal model for the production of transgenic avians. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2009(1), pdb-emo112.

Putri, I., Jannah, S. N., & Purwantisari, S. (2020). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from *Apis mellifera* and their potential as antibacterial using in vitro test against growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 3(1), 26-34.

R

Raheem, A., Liang, L., Zhang, G., & Cui, S. (2021). Modulatory effects of probiotics during pathogenic infections with emphasis on immune regulation. *Frontiers in Immunology*, 12, 616713.

- Rajoka, M. S. R., Hayat, H. F., Sarwar, S., Mehwish, H. M., Ahmad, F., Hussain, N., ... & Shi, J. (2018).** Isolation and evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from poultry intestine. *Microbiology*, 87(1), 116-126.
- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, R. U., & Jahid, I. K. (2019).** Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC microbiology*, 19(1), 1-20.
- REZGUI, M., & DI SPIGNO, M.** Les bénéfices du sacrifice rituel sans étourdissement pour les animaux et les hommes.
- Rinkinen, M., Westermarck, E., Salminen, S., & Ouwehand, A. C. (2003).** Absence of host specificity for in vitro adhesion of probiotic lactic acid bacteria to intestinal mucus. *Veterinary microbiology*, 97(1-2), 55-61.
- ❧
- Shazali, N., Foo, H. L., Loh, T. C., Choe, D. W., & Abdul Rahim, R. (2014).** Prevalence of antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from the faeces of broiler chicken in Malaysia. *Gut pathogens*, 6(1), 1-7.
- Sika-Kadji, A.E., T.B. Kéhi, F.K. N'Guessan and R.A.Koffi-Nevry. (2022).** Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from broiler chickens in Côte d'Ivoire. *Int. J. Poultry Sci.*, 21: 119-128.
- Silva, D. R., Sardi, J. D. C. O., de Souza Pitangui, N., Roque, S. M., da Silva, A. C. B., & Rosalen, P. L. (2020).** Probiotics as an alternative antimicrobial therapy: Current reality and future directions. *Journal of Functional Foods*, 73, 104080.
- Somashekaraiah, R., Shruthi, B., Deepthi, B. V., & Sreenivasa, M. Y. (2019).** Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from neera: a naturally fermenting coconut palm nectar. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1382.
- Souza, M. R., Moreira, J. L., Barbosa, F. H., Cerqueira, M. M., Nunes, A. C., & Nicoli, J. R. (2007).** Influence of intensive and extensive breeding on lactic acid bacteria isolated from *Gallus gallus domesticus* ceca. *Veterinary Microbiology*, 120(1-2), 142-150.

Syngai, G. G., Gopi, R., Bharali, R., Dey, S., Lakshmanan, G. M., & Ahmed, G. (2016). Probiotics-the versatile functional food ingredients. *Journal of food science and technology*, 53(2), 921-933.

J

Tarique, M., Abdalla, A., Masad, R., Al-Sbiei, A., Kizhakkayil, J., Osaili, T., ... & Ayyash, M. (2022). Potential probiotics and postbiotic characteristics including immunomodulatory effects of lactic acid bacteria isolated from traditional yogurt-like products. *LWT*, 159, 113207.

Tellez, G., Higgins, S. E., Donoghue, A. M., & Hargis, B. M. (2006). Digestive physiology and the role of microorganisms. *Journal of Applied Poultry Research*, 15(1), 136-144.

Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, 11(7), 1591.

Thapa, N., Pal, J., & Tamang, J. P. (2006). Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 107(1), 33-38.

Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of functional foods*, 9, 225-241.

Trunk, T., Khalil, H. S., & Leo, J. C. (2018). Bacterial autoaggregation. *AIMS microbiology*, 4(1), 140.

Tsega, K. T., Maina, K., & Berhane, N. (2019). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Gastrointestinal Tract of Ethiopian Rhode Island Red Chicken and their Potential Use as Probiotics.

Tuo, Y., Yu, H., Ai, L., Wu, Z., Guo, B., & Chen, W. (2013). Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains. *Journal of dairy science*, 96(7), 4252-4257.

T

- Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2003).** Stratégies nutritionnelles pour réduire les agents pathogènes chez la volaille. In Comptes Rendus des 5ièmes Journées de la Recherche Avicole (pp. 141-148).
- Van Zyl, W. F., Deane, S. M., & Dicks, L. M. (2020).** Molecular insights into probiotic mechanisms of action employed against intestinal pathogenic bacteria. *Gut Microbes*, 12(1), 1831339.
- Victor, S. D., François, Z. N., Marie, K. P., Alberto, C., & Florence, F. (2011).** Probiotic properties of lactobacilli strains isolated from raw cow milk in the western highlands of Cameroon. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, (9), 12-28.

W

- Waite, D. W., & Taylor, M. W. (2015).** Exploring the avian gut microbiota: current trends and future directions. *Frontiers in microbiology*, 6, 673.
- Wassie, M., & Wassie, T. (2016).** Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw cow milk. *Int J Adv Res Biol Sci*, 3(8), 44-49.
- WETMORE, (1952) :** A revised classification for the birds of the world. *Smithsonian Miscenllaneous collection n° 20*, pp 252-258.
- Wilkinson, N., Dinev, I., Aspden, W. J., Hughes, R. J., Christiansen, I., Chapman, J., ... & Stanley, D. (2018).** Ultrastructure of the gastro intestinal tract of healthy Japanese quail (*Coturnix japonica*) using light and scanning electron microscopy. *Animal nutrition*, 4(4), 378-387.
- Wilkinson, N., Hughes, R. J., Aspden, W. J., Chapman, J., Moore, R. J., & Stanley, D. (2016).** The gastrointestinal tract microbiota of the Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(9), 4201-4209.

Z

- Zaidi, N. A., Hamid, A. A. A., & Hamid, T. H. T. A. (2017).** Lactic acid bacteria with antimicrobial properties isolated from the instestines of japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Galeri Warisan Sains*, 1(1), 10-12.
- Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M., & da Cruz, A. G. (2020).** Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*, 32, 103-123.



Annexes

Produits chimiques:

- ❖ **Milieux de culture:** gélose MRS, bouillon MRS, bouillon et gélose nutritif, gélose Mueller-Hinton.
- ❖ **Colorants:** colorants de la réaction de Gram (fushine, cristal violet, lugol),
- ❖ **Autres:** NaCl, sels biliaires, PBS, Eau physiologique stérile, NaOH, HCl, lait écrémé, l'huile d'immersion, éthanol, Alcool, Eau oxygénée, Xylène, chloroforme, Tween, Phénol, Eau distillée, écouvillon stérile, glycérol, disques d'antibiotiques.

Appareillage:

Les équipements les plus importants que nous avons utilisés au cours de nos travaux sont les suivants :

- ❖ Centrifugeuse.
- ❖ Autoclave (Slli AVX électrique), Etuve (WTB binder).
- ❖ Pipettes Pasteur, pipettes graduées, micropipettes, burette, bécher, anse de platine.
- ❖ Boîtes de Pétri, tubes à essais, flacons et ependoff.
- ❖ Lame de bistouri, ciseau métallique.
- ❖ Spectrophotomètre (UV Shimadzu).
- ❖ Microscope optique (OL YMPUS).
- ❖ Hotte (Totelstar), Réfrigérateur, Bain marie (GERHARDT), Bec Bunsen.
- ❖ Agitateur magnétique (MEIDOL pH, MR 3001), Agitateur magnétique chauffant (Heidolph MR 3002), Vortex (VWR).
- ❖ PH mètre, Vortex électrique (Minishaker IKA).
- ❖ Balance (DENYER instrument Xp-600).

Milieu MRS (Man Rogosa Sharpe)

| | |
|--|--------|
| Peptone..... | 10,0 g |
| Extrait de viande..... | 8,0 g |
| Extrait de levure..... | 4,0 g |
| Glucose..... | 20,0 g |
| Acétate de sodium trihydraté..... | 5,0 g |
| Citrate d'ammonium | 2,0 g |
| Tween 80 | 1,0 ml |
| Hydrogénophosphate de potassium..... | 2,0 g |
| Sulfate de magnésium heptahydraté..... | 0,2 g |
| Sulfate de manganèse tétrahydraté..... | 0,05 g |
| Agar | 10,0 g |

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C

Stérilisation 20min 120 °C

Phosphate buffers saline (PBS)

| | |
|--|--------|
| NaCl..... | 8g |
| KCl..... | 0,2g |
| Na ₂ HPO ₄ | 1,44g |
| KH ₂ PO ₄ | 0,24g |
| Eau distillée..... | 1000ml |

PH ajusté a 7,5

Stérilisation 20min 120 °C

Bouillon Nutritif (BN)

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Tryptone..... | 10g |
| Extrait de viande..... | 5,0 g |
| Chlorure de sodium | 5,0g |
| PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C | |

Bouillon MRS

| | |
|-------------------------------------|--------|
| Polypeptone..... | 10.00g |
| Proteose peptone..... | 10.0 g |
| Extrait de viande..... | 10.00g |
| Extrait autolytique de levure..... | 5.00g |
| Glucose..... | 20.0g |
| Tween 80..... | 1.08 g |
| Phosphate dipotassique..... | 2.0g |
| Sodium acétate..... | 5.0 |
| Ammonium citrate..... | 2.0 |
| Magnésium sulfate..... | 0.2 |
| Manganèse sulfate..... | 0.05 |
| pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C | |



Réalisé par :
Hamdini sara
Kheddache inas
Zitouni nour el houda

Encadré par :
D^r. Boubezari MT

Date de soutenance :
15/09/2022

Mise en place d'une collection de souches probiotiques à partir du tractus digestif de la caille et évaluation de leurs aptitudes

Résumé

Le microbiote intestinal est le principal réservoir de bactéries chez les animaux. Dans ce contexte, nous avons réalisé cette étude dans le but de sélectionner des souches potentiellement probiotiques, isolées à partir du tube digestif (jabot, intestin) de la caille japonaise (*C. coturnix japonica*).

Vingt-trois isolats ont été purifiés, dans 10 isolats ont été testés pour déterminer les souches les plus performantes, des critères de sélection appliqués *in vitro* : résistance à l'acide gastrique et aux sels biliaires, aux antibiotiques, production de composés antimicrobiens, la capacité de s'auto-agrégér, de se co-agrégér avec des souches pathogènes et d'adhérer aux cellules épithéliales et de tolérer les composants toxiques tels que le peroxyde d'hydrogène et le phénol. Les isolats J18 et I7 considérés comme des probiotiques potentiels.

Mots clés : probiotiques, caille japonaise, tube digestif, microbiote intestinal, isoler, purification, pré-identification.

Abstract

The gut microbiota is the main reservoir of bacteria in animals. In this context, we conducted this study to select potentially probiotic strains isolated from the digestive tract (crop and intestine) of Japanese quail (*C. coturnix japonica*).

Twenty-three isolates were purified, in 10 isolates were tested to determine the best performing ones. Selection criteria applied *in vitro*: resistance to gastric acid and bile salts, to antibiotics, production of antimicrobial compounds, ability to self-aggregate, co-aggregate with pathogenic strains, adherence to epithelial cells and tolerance of toxic components such as hydrogen peroxide and phenol. Isolates J18 and I7 considered as potential probiotics.

Keywords : probiotics, Japanese quail, digestive tract, gut microbiota, isolate, purification, pre-identification.

ملخص

الجراثيم المعوية هي المستودع الرئيسي للبكتيريا في الحيوانات. في هذا السياق، أجرينا هذه الدراسة بهدف اختيار سلالات بروبيوتيك محتمل، معزولة عن الجهاز الهضمي (الحوصلة والأمعاء) من السمان الياباني (*C. coturnix japonica*).

تم تنقية 23 عزلة من بين هذه العزلات الـ23، تم اختبار 10 عزلات لتحديد أفضل أداء، ومعايير الاختيار المطبقة في المختبر: مقاومة حمض المعدة والأملاح الصفراوية، والمضادات الحيوية، وإنتاج مركبات مضادات الميكروبات، والقدرة على التجميع الذاتي، والتجمع المشترك مع مسببات الأمراض. والالتصاق بالخلايا الظهارية، وقدرة تحمل المركبات السامة مثل بيروكسيد الهيدروجين والفينول. تعتبر العزلات J18 و I7 بروبيوتيك محتملة.

الكلمات مفتاحية: البروبيوتيك، السمان الياباني، الجهاز الهضمي، الجراثيم المعوية، العزل، التنقية، التحديد المسبق.
