

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur*  
*et de la recherche scientifique*

جامعة محمد الصادق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 464



MB.13/04

04  
03

Université de Jijel  
Faculté des sciences  
Département de Biochimie- Microbiologie

*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention Du diplôme*  
*des études supérieures en biologie*

*Option : Microbiologie*

*Thème*

**Etude de l'effet d'un probiotique  
*Lactobacillus plantarum* « Bj0021 »  
sur la flore endogène et les paramètres  
zootecniques chez le poulet.**

Encadré par :

M<sup>r</sup> IDOUI TAYEB.

Réalisé par :

AZIEZE MERIEM.

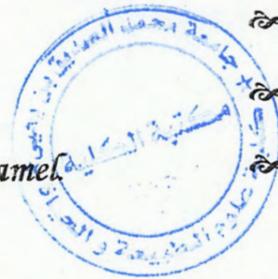
Membres de jury :

- Président : Boutelba Nadia.

- Examineur : Boudjerda Djamel.

FERIDJ NAOUAL.

SEKHRI ZEGGAR ALDJIA.



Promotion : 2003/2004

# Remerciements

*Nous remercions le bon dieu qui nous à donner le courage, la patience et la force pour continuer.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à Mr. IDOUI. TAYEB enseignant à l'université de Jijel, pour son encadrement précieux, sa patience, et ces conseils.*

*Nos remerciement vont également à:*

*Melle ROULA MASSIKA, ZENNIR, SONIA, NADJIBA et FOUZIA pour les services qu'elles nous ont offrent le long de nos études.*

*Le menuisier pour ces aides.*

*Mr MOHAMED de l'alimentation générale.*

*Notre frère SALEH pour ces aides.*

*Nos remerciement vont également à nos enseignants, et tous ceux qui ont aide de près ou de loin, qu'il trouvent ici notre profonde gratitude.*

*Sans oublier également les membres de jury qui ont bien accepté de juger notre travail.*

*A vous tous, un grand Merci.*

## SOMMAIRE

Introduction	
Partie I : Etude bibliographique	
Chapitre I : Les bactéries lactiques	
I.1. Définition.....	3
I.2. Propriétés générales.....	3
I.3. Classification.....	3
I.3.1. Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	4
L'espèce <i>Lb plantarum</i> .....	4
I.4. Rôle des bactéries lactiques.....	4
I.4.1. Rôle dans la production de facteurs antimicrobiens.....	4
I.4.2. Rôle de l'acide lactique et du pH.....	5
I.4.3. Composés divers.....	6
I.4.4. Effet sur le transit et sur la flore intestinale.....	6
I.4.5. Effet sur la repense immunitaire.....	6
Chapitre II : Les probiotiques	
II.1. Définition.....	7
II.2. Propriétés générales.....	7
II.3. Classification.....	7
II.3.1. Les ferments lactiques.....	7
II.3.2. Les bifidobactéries.....	8
II.3.3. Les levures.....	8
II.4. Rôle des probiotiques.....	9
II.4.1. Dans la nutrition.....	9
II.4.2. Stimulation de l'immunité.....	10
II.4.3. Inhibition des bactéries indésirable.....	10
II.4.4. Neutralisation de produits toxiques.....	11
Chapitre III : Les probiotiques chez le poulet de chair	
III.1. Physiologie du tube digestif du poulet.....	12
III.1.1. L'appareil digestive et la digestion du poulet.....	12
III.1.1.1. La cavité buccale.....	12
III.1.1.2. L'œsophage et le jabot.....	12
III.1.1.3. L'estomac.....	12
III.1.1.4. L'intestin.....	13
III.1.1.5. Le cloaque.....	13
III.2. La microflore digestive des volailles.....	14
III.3. Utilisation des probiotiques chez le poulet.....	14
III.3.1. Efficacité sanitaire des probiotiques.....	15
III.3.2. Efficacité zootechnique.....	15
Partie II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. But de l'expérimentation.....	16
II.2. Matériel.....	16
II.2.1. Les animaux.....	16
II.2.2. Probiotique et souches bactériennes.....	16
II.2.3. Le lait.....	17

II.2.4. Les mangeoires.....	17
II.2.5. Les abreuvoirs.....	17
II.2.6. L'aliment.....	17
II.2.7. Le médicament.....	18
II.2.8. Milieux de culture.....	18
II.2.9. Autres produits.....	19
II.2.10. Autres matériel.....	19
II.3. Méthodes.....	19
II.3.1. Méthode d'élevage.....	19
II.3.2. Préparation et utilisation du probiotique.....	21
II.3.3. Contrôle bactériologique de l'eau et de l'aliment.....	22
II.3.3.1. Echantillonnage.....	22
II.3.3.2. Préparation des dilutions décimale.....	23
II.3.3.3. Ensemencement.....	23
II.3.3.4. Les flores recherchées et dénombrées.....	23
II.3.4. Révification et identification des souches.....	26
II.3.5. Interaction entre <i>Lb plantarum</i> et les souches bactériennes.....	30
II.3.6. Evaluation de l'évolution de la flore endogène.....	30
II.3.6.1. Echantillonnage.....	30
II.3.6.2. Préparation des dilutions.....	30
II.3.6.3. Ensemencement et dénombrement.....	31
II.3.6.4. Test de fragilité.....	32
II.3.7. Analyse microbiologique après abattage.....	32
II.3.8. Paramètres zootechniques.....	32
II.3.8.1. Pesée des animaux.....	32
II.3.8.2. Pesée de l'aliment et relevés de quantités d'eau consommées.....	32
II.3.8.3. Paramètres de croissance.....	33
II.3.8.4. Paramètres de carcasse.....	34
II.3.9. Analyse statistique.....	35

### PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Préparation et utilisation du probiotique.....	36
III.2. Qualité bactériologique de l'eau et l'aliment.....	36
III.3. Composition de l'aliment.....	37
III.4. Révification et identification des souches.....	38
III.4.1. Examen microscopique.....	38
III.4.2. Tests biochimiques.....	38
III.5. Les interactions bactériennes.....	42
III.6. Test de fragilité.....	45
III.7. Effet du probiotique sur la flore endogène du poulet.....	48
III.7.1. Evolution du nombre de la flore mésophile totale (FTAM).....	48
III.7.2. Dénombrement des entérobactéries.....	49
III.7.3. Dénombrement de <i>Lb plantarum</i> .....	50
III.7.4. Recherche des <i>Clostridium</i> , <i>Salmonella</i> et <i>Staphylococcus</i> .....	52
III.8. Les paramètres zootechniques.....	52
III.8.1. Ingestion d'aliment.....	52
III.8.2. L'eau abreuviée.....	54
III.8.3. Indice de consommation.....	56
III.8.4. Poids vif.....	58
III.8.5. Gain moyen quotidien.....	59
III.8.6. La mortalité à l'engraissement.....	61

III.8.7. Les paramètres de carcasse.....	61
III.9. L'analyse microbiologique après l'abattage.....	62
Conclusion générale.....	64
Références bibliographiques.	
<b>Annexe</b>	

# Résumé

Notre étude avait pour objectif de tester l'effet du probiotique *Lb plantarum* « BJ0021 » sur la flore endogène « *in-vitro* et *in-vivo* » et les performances zootechniques des poussins ISA15.

Les résultats obtenus *in-vitro* indiquent que le probiotique exerce des mécanismes d'inhibition vis-à-vis des 06 souches d'entérobactéries en plus d'une souche de *Staphylococcus*.

Par ailleurs, les meilleurs résultats relatifs aux paramètres microbiologiques et zootechniques sont enregistrés chez les sujets recevant le probiotique.

A l'égard de cette étude, on conclut que le probiotique est considéré comme un meilleur promoteur de croissance.

**Mots clés :** probiotique, poussin, entérobactérie, inhibition, *Lb plantarum* « BJ0021 ».

# SUMMARY

Our survey had for objective to test the effect of the probiotic *Lb BJ0021 plantarum* on flora endogenous" in-vitro and in-vivo" and the zootechnic performances of the ISA15 chicks.

The results gotten in-vitro indicate that the probiotic exercises mechanisms of inhibition opposite the 06 stumps of enterobacteries in addition to a stump of *Staphylococcus*.

Otherwise, the best relative results to the microbiological and zootechnic parameters are recorded among the subjects receiving the probiotic.

To the consideration of this survey, one finished that the probiotic is considered like a better promoter of growth.

**Key words:** probiotic, chick, enterobacteries, inhibition, *Lb plantarum* «BJ0021 ».



**ADH:** Arginine dihydrolase.

**ATP:** Adenosine triphosphate.

**BLBVB:** Bouillon lactosé à la bile et au vert brillant.

**c:** Colonies.

**C:** Cytosine.

**°C:** Degré celssus.

**cm:** Centimètre.

**CODAC:** Coopérative de développement de l'aviculture et de cuniculture.

**°D:** Degré dornic.

**g:** Gramme.

**g/j:** Gramme par jour.

**G:** Guanine.

**G.M.Q:** Gain moyen quotidien.

**GN:** Gélose nutritive.

**I.C:** Indice de consommation.

**K<sup>+</sup>:** Ion de potassium.

**Kg:** Kilogramme.

**Lb:** *Lactobacillus*.

**LDC:** Lysine décarboxylase.

**ml:** Millilitre.

**mm:** Millimètre.

**N:** Nombre.

**Npp:** Nombre plus probable.

**NS:** Non significatif.

**ODC:** Ornithine décarboxylase.

**P:** probable.

**pH:** potentiel hydrogène.

**S:** semaine.

**T.M:** Taux de mortalité.

**V:** Volume.

# Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Valeur du pH limite permettant l'inhibition de la croissance chez diverses bactéries.....	05
<b>Tableau 02</b> : Les principales bactéries du tube digestif des volailles.....	13
<b>Tableau 03</b> : Caractéristiques et aptitudes technologiques de <i>Lactobacillus plantarum</i> « BJ0021 ».....	17
<b>Tableau 04</b> : Composition de l'aliment source : CODAC de Jijel.....	18
<b>Tableau 05</b> : Evaluation de la flore bactérienne de l'eau et l'aliment (c/ml et c/g).....	37
<b>Tableau 06</b> : Les tests de l'identification des différentes souches étudiées.....	39
<b>Tableau 07</b> : Résultats des interactions sur milieu solide.....	43
<b>Tableau 08</b> : Résultats des interactions sur milieu solide.....	43
<b>Tableau 09</b> : Résultat du test de fragilité.....	47
<b>Tableau 10</b> : Evolution du nombre de la FTAM.....	48
<b>Tableau 11</b> : Evolution du nombre des entérobactéries.....	50
<b>Tableau 12</b> : Evolution du nombre de <i>Lactobacillus</i> .....	51
<b>Tableau 13</b> : Evolution des quantités d'aliment ingérée (en g).....	53
<b>Tableau 14</b> : Evolution des quantités moyennes d'eau consommées.....	55
<b>Tableau 15</b> : Evolution de l'indice de consommation.....	57
<b>Tableau 16</b> : Evolution du poids vif moyen des poulets (en g).....	59
<b>Tableau 17</b> : Evolution du gain moyen quotidien.....	60
<b>Tableau 18</b> : Les composants du rendement à l'abattage.....	62
<b>Tableau 19</b> : résultat de l'analyse microbiologique et microscopique.....	63

Notre présente étude comporte une partie bibliographique et une autre partie expérimentale dans laquelle, on va étudier des interactions *in-vitro* entre un probiotique *Lactobacillus plantarum* et quelques bactéries (*Salmonella*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*), suivie d'une évaluation *in-vivo* de l'effet de ce probiotique sur les performances zootechniques et la flore endogène du poulet de chair.

# Partie I

## partie bibliographique

### Chapitres

- Les bactéries lactiques.
- Les probiotiques.
- Les probiotiques chez le poulet de chair.

### I.1. Définition :

Les bactéries lactiques sont des microorganismes assez hétérogènes sur les plans morphologiques et physiologiques. La principale fonction métabolique d'une bactérie lactique est d'excréter l'acide lactique D (-), L (+) ou DL [4].

### I.2. Propriétés générales :

- Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets.
- Caractérisées par la production de l'acide lactique.
- GRAM (+).
- Nitrate réductase (-).
- Catalase (-).
- Cytochrome oxydase (-).
- Immobiles et asporules.
- Ont des exigences nutritionnelles complexe pour les acides amines, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles.
- En générale aerotolérante, mais certaines espèces vivantes dans le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes.
- En effet les bactéries lactiques homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> en plus de l'acide lactique [4].

### I.3. Classification :

Il est possible de classer les bactéries lactiques selon la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides [7].

- Le genre *Lactococcus*.
- Le genre *Streptococcus*.
- Le genre *Pediococcus*.
- Le genre *Leuconostoc*.
- Le genre *Lactobacillus*.

On va développer les données relatives au genre qui nous intéresse dans notre étude qui est *Lactobacillus*.

### I.3.1. Le genre *Lactobacillus* :

Ce sont des bâtonnets groupés généralement en chaînettes, demandant une forte exigence en facteurs de croissance, de 11 à 15 acides aminés pour *Lactobacillus delbrueckii*, suivant les différentes souches, tolérantes des pH acides (allant jusqu'à pH 3.5), et une teneur en G+C de 32% à 53% [2].

Les *Lactobacillus* sont groupés en trois grands groupes :

➤ **Groupe 1 :**

Homofermentaire obligatoire comprenant des espèces du groupe *Thermobacterium*, homofermentaire et thermophile, mais aussi d'autres espèces décrites récemment [14].

➤ **Groupe 2 :**

Homofermentaire facultatif comprenant des espèces du groupe *Streptobacterium* homofermentaire et mésophile [2].

➤ **Groupe 3 :**

Hétérofermentaire obligatoire, comprenant des espèces du groupe *Betaibacterium* hétérofermentaire mésophile ou thermophile [14].

#### I.3.1.1. L'espèce *Lactobacillus plantarum* :

Elle est hétérofermentaire, capable de culture à 15°C mais pas à 45°C, lactose (+), saccharose (+), gluconate (+), ribose (+), xylose (+), arginine dihydrolase (-), glucose (+), gaz (-), glucoside (-), aldonase (+), pentose (+), thiamine (-), immobile, acide lactique (D ou LD).

G+C%=33 à 46.4 [2].

Chez *Lactobacillus plantarum*, un pyruvate oxydase provoque la libération de pyruvate d'hydrogène à partir de glucose en anaérobiose [2].

*Lactobacillus plantarum* peut libérer de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à partir du lactose dans un milieu où le glucose est épuisé [2].

### I.4. Rôle des bactéries lactiques :

#### I.4.1. Rôle dans la production de facteurs antimicrobiens :

L'étude sur certains phénomènes liés aux bactéries lactiques a abouti dans les années 1940 à la découverte d'inhibiteurs spécifiques tels que la « diplococcine » produite par *Streptococcus cremoris*, la « nisine » produite par *Streptococcus lactis* [19] et à la mise en

Evidence d'inhibition par le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) produit par de nombreuses Souches lactiques [3].

Depuis, des bactériocines ont été mises en évidence chez la plupart des lactobacilles et chez les pédiocoques [3].

Le mode d'action se situe plutôt au niveau membranaire en modifiant le potentiel de la membrane, ce qui entraîne des fuites d'ATP, d'ion  $k^+$  et par conséquent l'impossibilité pour les cellules de maintenir leur pH intracellulaire [3].

### I.4.2. Rôle de l'acide lactique et du pH :

Les bactéries lactiques ont un rôle fondamental dans l'inhibition des flores non lactiques des produits laitiers.

Deux facteurs principaux parfois difficilement dissociables doivent être pris en compte : le pH et les acides notamment l'acide lactique [3].

Parmi les bactéries non lactiques, rares sont celles qui peuvent croître à des valeurs de pH inférieures à celles obtenues avec les germes lactiques (tableau 1).

Ainsi, une bonne acidification lactique entraîne une inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, des *Pseudomonas*, des *Salmonella* et des *Clostridium*.

**Tableau 1** : Valeur du pH limite permettant l'inhibition de la croissance chez diverses bactéries [5].

Bactéries GRAM négatif	pH min	Bactéries GRAM positif	pH min
<i>Escherichia coli</i>	4.9	<i>Bacillus cereus</i>	4.9
<i>Klebsiella pneumoneae</i>	4.9	<i>Clostridium</i>	4.7
<i>Proteus vulgaris</i>	4.4	<i>Enterococcus sp.</i>	4.8
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	5.6	<i>Lactobacillus sp.</i>	4.8
<i>Salmonella paratyphi</i>	4.5	<i>Micrococcus sp.</i>	5.6
<i>Salmonella typhi</i>	4.0_4.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.8	<i>Lactobacillus lactis</i>	4.3_4.8

En général, c'est la forme moléculaire (non dissociée) de l'acide lactique qui est le facteur toxique pour les bactéries.

En milieu faiblement tamponné, l'acide lactique et l'acide acétique qui est beaucoup plus toxique agissent en synergie.

L'acide lactique contribue à diminuer le pH du milieu, augmentant ainsi la toxicité de l'acide acétique [3].

### I.4.3. Composés divers :

Les concentrations d'acétaldéhyde atteignant 25ppm peuvent avoir un effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* ou *Escherichia coli*, car ces germes indésirables voient leur croissance ralentis à partir de 10ppm [3].

En présence d'oxygène, les bactéries lactiques peuvent produire du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) qui est toxique pour différentes bactéries.

Ce composé est capable d'endommager les membranes bactériennes ; les germes GRAM négatif étant les plus sensibles.

L' $H_2O_2$  peut provoquer des altérations au niveau de l'ADN notamment chez *Escherichia coli*.

En effet, il provoque des ruptures de la chaîne de l'ADN en libérant les bases nucléotidiques, ce qui empêche la répllication chromosomique [3].

### I.4.4. Effet sur le transit et sur la flore intestinale :

L'ingestion des laits fermentés ou de bactéries lactiques peut contrer les effets d'une prolifération d'*Escherichia coli* toxique, grâce aux mécanismes suivants [3] :

- Production des substances anti *Escherichia coli* ;
- Abaissement de pH par l'acide lactique ;
- Détoxication des enterotoxines ;
- Prévention de la synthèse des amines toxiques ;
- Fixation sur le tube digestif empêchant la colonisation par les bactéries pathogènes.

### I.4.5. Effet sur la repense immunitaire :

Il a été montré qu'un mélange de *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus acidophilus* pouvait augmenter l'activité phagocytaire *in-vitro* des macrophages et l'activité lymphocytaire chez les souris, une ingestion de *Lactobacillus casei* augmente l'activité anti-listeria des macrophages du foie [3].

### II.1. Définition :

Le terme de probiotique dérive des deux mots grecs « pro » et « bios » est signifie littéralement « en faveur de la vie ». Se sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité adéquate, ont des effets bénéfiques sur l'organisme hôte en améliorant les propriétés de sa flore intestinale. Il s'agit le plus souvent de bactéries ou de levures présentes dans des aliments, notamment les produits laitiers fermentés, ou dans des compléments alimentaires sous forme lyophilisée [5].

### II.2. Propriétés générales :

Pour exercer leur effet bénéfique sur la santé, les probiotiques doivent, survivre en grand nombre au procédé de fabrication, à la lyophilisation éventuelle et à l'entreposage qui s'ensuit. Il est en effet généralement admis qu'un nombre minimal de  $10^7$  cellules viables par gramme de produit est nécessaire pour exercer un effet probiotique [5].

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que des cellules en phase stationnaire de croissance, plus tolérantes aux stress environnementaux que des cellules en phase exponentielle, devraient être privilégiées pour la confection de produits contenant des probiotiques en grand nombre [5].

Les interactions possibles entre bactéries lactiques et probiotiques devraient également être prise en compte pour sélectionner la meilleure combinaison de souche afin d'optimiser le procédé et la survie cellulaire dans le produit entreposé [5].

En fin, ces bactéries probiotique devraient être capable de survivre en grand nombre aux conditions acides de l'estomac et aux sels biliaries de l'intestin lors de la consommation de produit, puis d'adhérer aux cellules épithéliales le plus longtemps possible [5].

Certaines études ont cependant montré que la consommation de probiotique non viable peut aussi engendrer des effets bénéfiques sur le système immunitaire [5].

### II.3. Classification des probiotiques :

#### II.3.1. Les ferments lactiques :

On définit les levains ou ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés. Parmi ces cultures, on distingue les ferments naturels, souvent des mélanges de nombreuses souches de bactéries dont la composition exacte est indéterminée, des ferments Mixtes, composés de cinq ou six souches soigneusement sélectionnées et cultivées séparément jusqu'au stade de culture mère ou de ferment.

Au cours de la fermentation, les bactéries se multiplient et produisent des composés conférant à l'aliment ses propriétés organoleptiques comme l'acidité, la saveur, l'arôme et la texture [13].

Les bactéries les plus traditionnellement utilisées comme probiotique sont :

Les souches de *Lactobacillus plantarum* qui peuvent synthétiser une catalase si le milieu contient un dérivé hématinique (milieu au sang) ainsi que *Lactobacillus acidophilus*.

Une autre souche c'est *Pediococcus acidilactici* qui produit une bactériocine appelée pédiocine qui est active sur : *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Clostridium* [13].

### II.3.2. Les bifidobactéries :

La découverte des bifidobactéries remonte au début du siècle lorsque HENRI TISSIER les a isolées de selles d'enfants nourris au lait maternel. Les bifidobactéries sont des bâtonnets à GRAM positif au forme variées, non mobile, non sporulant et en générale anaérobies strictes qui composent la presque totalité (85 à 99%) de la flore intestinale d'un bébé [13].

Ces bactéries jouent un rôle majeur dans l'équilibre et la stabilité de la flore intestinale, d'où l'appellation de culture probiotique. Une diminution des bifidobactéries au profit des clostridies, des lactobacilles, des streptocoques et des entérobactéries est cependant observée tout au long de la vie [13].

Parmi les 32 espèces de bifidobactéries répertoriées, 10 sont considérées comme étant d'origine humaine, alors que autres sont isolées dans les matières fécales d'animaux divers [13]. *Bifidobacterium langum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis* et *Bifidobacterium breve* ont été les plus étudiés à cause de leur aptitude à fermenter le lait ou à être incorporées dans les aliments [13].

### II.3.3. Les levures :

Les levures et plus particulièrement *Saccharomyces cerevisiae* sont utilisées depuis des siècles par l'homme et représentent le groupe de microorganismes le plus exploité commercialement. Elles sont utilisées notamment en panification pour la fermentation de boissons alcoolique. Les levures sont également utilisées comme additifs alimentaires chez les animaux pour améliorer les performances zootechniques et comme régulatrices de la flore intestinale chez l'homme.

Les levures utilisées comme probiotique sont des *Saccharomyces cerevisiae*. Une souche bien déterminée de cette levure est dénommée *Saccharomyces boulardii* [13].

### II.4. Rôle des probiotiques :

Le mode d'action des probiotique reste encore imparfaitement élucidé et beaucoup d'hypothèses subsistent. L'effet bénéfique du à l'administration de probiotique pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes [13].

#### II.4.1. Dans la nutrition :

Quelques mécanismes ont été montrés sur des animaux de laboratoire en particulier pour des souches de lactobacilles, certaines espèces de lactobacilles de yaourt favorisent l'absorption du lactose chez des sujets mal absorbeurs.

Chez les ruminants, l'effet de souche de *Saccharomyces cerevisiae* sur l'activité des bactéries du rumen a été montrée *in-vitro*, l'addition des cellules vivantes de levures des cultures de champignons cellulolytiques stimulerait chez ces derniers la production de zoospores et la dégradation de la cellulose, ainsi que la croissance de bactéries anaérobies cellulotique en produisant de l'acide lactique [5].

#### ➤ Amélioration de la digestibilité :

Certaines bactéries probiotiques, notamment les *Lactobacillus*, excrètent la B-galactosidase souvent déficiente de tractus digestif de l'hôte et facilitent donc la digestion de lactose chez le poulet [5].

Certaines souches de *Lactobacillus* augmentent la vitesse d'amilolyse et la production de l'acide lactique [5].

Les bactéries probiotiques stimuleraient l'activité enzymatique des microorganismes endogènes permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments.

Elles stimuleraient également les activités lactase ou invertase des cellules épithéliales du tractus digestif.

La digestibilité de la ration alimentaire pourrait être également augmentée par la destruction des facteurs antinutritionnels tel que l'acide phytique et les glucosinates des substrats assimilables par l'hôte [5].

#### II.4.2. Stimulation de l'immunité :

Ce sont surtout les souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* qui sont capables d'induire une stimulation du système immunitaire. Ceci est très intéressant car la muqueuse intestinale est l'un des organes lymphoïdes de l'organisme le plus peuplé en cellules immunitaires et elle est en contact permanent avec la masse antigénique énorme, qui est les bactéries de la flore intestinale et les aliments [1].

Des effets immunomodulateurs de bifidobactéries et lactobacilles ont été observés chez l'animal [20] dont l'administration de certaines souches est susceptible de stimuler l'immunité « non spécifique » notamment l'activité des macrophages et la phagocytose [16].

Ces effets permettent d'expliquer une résistance accrue contre les infections.

### II.4.3. Inhibition des bactéries indésirables :

La répression du développement de germes indésirables ou pathogènes peut se faire de plusieurs façons :

La production des acides organiques tel que l'acide lactique ou l'acide acétique abaisse le pH, inhibant ainsi le développement des *Escherichia coli* et des *Salmonella*. De plus l'acidification favoriserait le péristaltisme intestinal [5].

Certaines souches probiotiques en particulier les *Lactobacillus* ne possèdent pas de complexe cytochrome pour réaliser les phosphorylations oxydatives mais utilisent les flavoprotéines pour l'oxydation terminale et forment du peroxyde d'hydrogène qui est un composé inhibiteur pour ces bactéries, ceci également pourrait être une des explications de l'effet antagoniste des *Lactobacillus* contre des souches *Salmonella* dans le jabot des volailles. Le peroxyde d'hydrogène produit par les *Lactobacillus* inhibe des bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium butyricum*, *Pseudomonas Spp* et *Salmonella*. Mais bien que ce système antagoniste possède un large spectre d'action *in-vitro*, ces souches probiotiques pourraient également réprimer la croissance des bactéries pathogènes par production de substances antimicrobiennes de type bactériocines capable d'inhiber les germes fréquemment responsables d'infection en élevage [5].

L'implantation des germes indésirables pourrait également être empêchée par une inhibition compétitive des souches probiotiques par consommation des nutriments à la place des souches pathogènes [5].

### II.4.4. Neutralisation de produits toxiques :

Les probiotiques provoqueraient une atténuation du catabolisme intradigestif et une orientation de la microflore intestinale pour réduire l'absorption de substances toxiques telles que l'ammoniac, les amines et les indoles et diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques [5].

Les bactéries probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser *in situ* certaines toxines bactériennes [5].

### III.1. Physiologie du tube digestif du poulet :

Afin de pouvoir comprendre le choix de l'alimentation du poulet, il nous apparait souhaitable, au préalable, de décrire brièvement les organes digestifs et de rappeler les principes de la digestion [23].

#### III.1.1 L'appareil digestive et la digestion du poulet :

##### III.1.1.1. La cavité buccale :

Elle est limitée par le bec qui recouvre les naudibules. La cavité buccale communique avec les cavités nasales et les conduites additives – la langue peu mobile est triangulaire et cornée donc dépourvue de papilles sensitives. Les glandes salivaires sont réduites et de plus la salive étant dépourvue de substance assurant la digestion (enzymes), il n'y a pas de digestion au niveau de la bouche [23].

##### III.1.1.2. L'œsophage et le jabot :

L'œsophage est une conduite qui relie la bouche au pré estomac. Le jabot est sur le trajet de l'œsophage, il peut stocker des aliments et dans ce cas ceux-ci s'humectent et se ramollissent. Il fonctionne très peu chez le poulet « standard » alimenté à volonté.

En effet les aliments vont dans ce cas directement dans le gésier. Lorsque celui-ci est plein, les produits atteignent le pré estomac (ou pro ventricule). En fin une fois celui-ci à son tour rempli, les aliments exedentaires sont stockés dans le jabot, si l'animal est alimenté à volonté il n'a aucune raison d'être si vorace et le jabot est donc inutilisé [23].

##### III.1.1.3. L'estomac :

Il comprend 02 partie :

- ✦ Un estomac chimique, le pré estomac.
- ✦ Un estomac mécanique, le gésier.

La première partie de l'estomac sécrète des substances débutant la digestion, le suc gastrique et l'acide chlorhydrique comme l'estomac des autres animaux.

Ces sécrétions digestives débutent la dégradation des aliments en élément nutritifs utilisables par l'animal. Mais cette action est brève car le passage dans cette partie du tube digestif est rapide.

Le gésier n'a pas (ou très peu) de sécrétion propre, sa paroi musculaire est épaisse, cornée à l'intérieur.

Les éléments durs de la ration, le « grit » (ou petits graviers) restent un certain temps dans le gésier ou il jouent, en fait, le rôle des dents, au cours des contraction du muscle qui se produisent 2à3 fois par minute [23].

### III.1.1.4. L'intestin :

C'est un milieu de fermentations c'est-à-dire de destruction, de dégradation très important.

C'est le lieu principal de la digestion de l'essentiel des sucres (amidon des céréales principalement), des matières azotées et des graisses sont concernés et seront réduits en « élément nutritifs », en nutriments. Cette digestion se fera grâce aux nombreuses sécrétions digestives de l'intestin grêle aidé par les sécrétions des pancréas et foie (bile) qui débouchent au début de l'intestin. Dans la partie postérieure de l'intestin, la digestion est terminée et les déchets débouchent, après être passés dans un petit rectum, dans le cloaque [23].

### III.1.1.5. Le cloaque :

Particulier aux volailles. Reçoit à la fois dans un même orifice d'aboutissement, les voies génitales, urinaires et intestinales.

Nous retiendrons que le poulet est un animal à digestion rapide dont l'essentiel des éléments nutritifs est fabriqué par l'intestin [23].

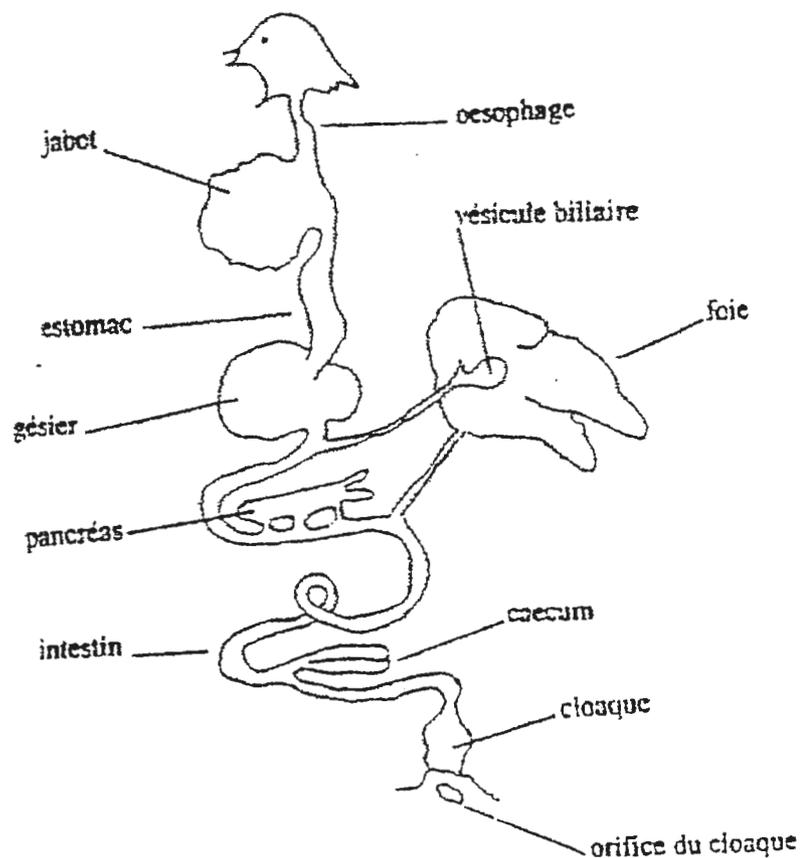


Figure 01: Schéma de l'appareil digestif de la poule.

### III.2. La microflore digestive des volailles :

La microflore des volailles est composée de nombreux microorganismes différents (tableau 2) entre lesquels existent des interactions complexes. Les microorganismes majoritaires de la flore intestinale des volailles sont les *Lactobacillus* : *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus fermentum*. Ils sont présents tout le long du tractus digestif (jabot, gésier, intestin grêle et caecum) y compris dans les fèces. Le groupe sous dominant est constitué de souches d'*Enterococcus* : *Enterococcus faecalis* subsp. *Liquefacium* et *Enterococcus faecalis* subsp. *Zymogènes*. *Enterococcus faecium*. *Enterococcus avium* et *Enterococcus gallinarum* [5].

Le tableau 2 regroupe les principales bactéries du tube digestif.

**Tableau 2 :** Les principales bactéries du tube digestif des volailles [5].

Les principales bactéries du tube digestif	Les principales bactéries du tube digestif
<i>Bacteriodes Spp</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Bifidobacterium Spp</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Micrococcus Spp</i>
<i>Eubacterium Spp</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Fusobacterium Spp</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Peptostreptococcus Spp</i>	<i>Enterococcus avium</i>
<i>Gemmiger formicillis</i>	<i>Enterococcus gallinarum Ruminococcus obeum</i>

### III.3. Utilisation des probiotiques chez le poulet :

Les probiotiques ; en aviculture, sont essentiellement utilisés dans le but d'apporter des microorganismes bénéfiques absents du tractus alimentaire pour que les poulets puissent bénéficier des effets favorables de ces microorganismes. Les bactéries nécessaires pour une bonne hygiène digestive et un bon développement des poulets peuvent être absentes du tube digestif pour diverses raisons :

- Les poussins nouvellement éclos sont en élevage, séparés de leurs parents. Cela empêche la transmission verticale des bactéries bénéfiques [5].
- Les conditions d'élevage stressent les animaux et détruisent l'équilibre de l'écologie digestive [5].

### III.3.1. Efficacité sanitaire des probiotiques :

Leur efficacité première se situe au niveau de l'aspect sanitaire : les *Lactobacillus* exercent des activités antibactérienne contre diverses bactéries pathogènes et notamment contre les microorganismes fréquemment responsables d'infections chez les poulets : *Salmonella. Sp.*, *Campilobacter*, *Escherichia coli* [5].

Les bactéries lactiques *in-vitro* inhibent le développement des germes indésirables par production des bactériocines, d'acides organiques ou peroxyde d'hydrogène. *In-vivo* par extrapolation des observations faites *in-vitro*, il semblerait que l'inhibition des microorganismes pathogènes, se fasse soit par l'action d'un des composés, soit par l'action combinée de plusieurs de ces composés mais le mécanisme par lequel les *Lactobacillus* empêchent le développement des germes pathogènes dans le tractus digestif des volailles n'est pas clairement définis [5].

De nombreuses expériences confirment les effets des *Lactobacillus* contre des souches d'*Escherichia coli* pathogène ou non et contre des souches de *Salmonella* [5].

L'administration de *Lactobacillus acidophilus* à des poussins nouvellement éclos infectés par *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* permet de réduire le taux de mortalité des animaux et de diminuer le nombre de pathogènes présents dans le jabot. Par contre aucune diminution significative des *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* n'a été observé au niveau du coecum, ceci signifié que le probiotique agit essentiellement au niveau de jabot [5].

### III.3.2. Efficacité zootechnique :

Les *Lactobacillus* sont également efficaces du point de vue des performances zootechniques. Il subsiste, néanmoins, des résultats contradictoires. Cependant le coût des composants alimentaires est très élevé et augmente chaque année, aussi tout avantage du point de vue zootechnique, même léger, peut se révéler économiquement rentable pour les producteurs [5].

TORTUERO à étudié sur des poussins, les effets zootechniques d'une souche de *Lactobacillus acidophilus*.

La ration des poussins est supplémentée avec la souche *Lactobacillus acidophilus*, un antibiotique, le probiotique et l'antibiotique ou n'est pas du tout supplémentée (lot témoin).

Les résultats montrent que, quelque soit l'additif utilisé le gain de poids et l'efficacité alimentaire augmente de façon identique. Par contre, la digestion des graisses et la rétention azotée ne sont pas plus élevées que celles du lot témoin [5].

L'administration du probiotique s'accompagne d'une diminution du poids des fèces et du caecum. Ainsi que d'une modification de la microflore bactérienne dans l'intestin grêle et le caecum ; dès le neuvième jour les entérocoques ont pratiquement disparu. Lors de l'addition simultanée des deux additifs il n'y a pas d'effet cumulatif [5].

**Partie**

**II**

**Matériel et méthodes**

## II. Matériel et méthodes :

### II. 1. But de l'expérimentation :

Le présent travail consiste à étudier l'effet de probiotique dans l'alimentation du poulet de chair.

L'étude va permettre d'évaluer, d'une part l'intérêt nutritionnel du probiotique *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » par le suivie de l'évolution des performances zootechniques du poulet de chair à savoir :

+ : positif.

- Les quantités d'aliments ingérées ;
- L'indice de consommation (I.C) ;
- L'évolution de poids vif ;
- Le gain moyen quotidien (G.M.Q) ;
- La mortalité ;
- Les paramètres de carcasse.

D'autre part, voir l'effet du probiotique sur la flore endogène du poulet de chair et cela in-vitro et in-vivo

### II.2. Matériel :

#### II.2.1. Les animaux :

L'étude a été conduite sur 89poussins de souche ISA15.

15 d'entre eux sont morts en période d'adaptation et le reste a été reparti sur deux lots de 37 sujets chacun.

#### II.2.2. Probiotique et souches bactériennes :

La culture bactérienne utilisée comme probiotique est une bactérie lactique *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » isolée localement à partir du beurre traditionnel de Jijel dont les caractères sont illustrés dans le tableau 3.

Les souches utilisées pour l'étude des interactions sont :

- Deux *Salmonella* B41 et B42 ;
- Deux *Staphylococcus* ATCC 43866 et ATCC 43300 ;
- *Escherichia Coli* ATCC 25922 et une souche de genre *Enterobacter* ;
- *Pseudomonas* ATCC 27853 ;
- Un *Proteus* et une souche de *Klebsiella* ;

**II.2.3. Le lait :**

Pour la préparation du probiotique, on a utilisé un lait écrémé fournit par la laiterie IGILAIT.

**Tableau 3 :** Caractéristiques et aptitudes technologiques de *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » [7].

Caractéristiques de <i>Lactobacillus plantarum</i>											
GRAM	catalase	6.5% Na Cl	15°C	45°C	Lactose	Saccharose	gluconate	ribose	Xylose	ADH	Fermentation
+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	Homofermentaire
Aptitudes technologiques											
Production de l'acide lactique		Protéolyse		Production de dextrine		Antibioresistance			ADN plasmique		
109,66°D/24h		+		-		Très résistante à la majorité des antibiotiques			Présence de 2 bandes ADN plasmique		

+ : positif.

- : négatif.

°D : degré dornic.

**II.2.4. Les mangeoires :**

Au cours de notre étude, on a utilisé des mangeoires de démarrage de capacité de 1 à 2kg, et ceux de croissance de capacité de 15kg.

**II.2.5. Les abrévoires :**

On a utilisé des abrévoires de démarrage de capacité de quatre litres.

**II.2.6. L'aliment :**

On a utilisé deux types d'aliment, aliment de démarrage-croissance et celui de finition fabriqués et distribués par l'établissement CODAC (Coopérative de développement de L'aviculture et de cuniculture) qui se trouve à KAOUES dont la composition de l'aliment est consignée au tableau 4.

**Tableau 4 :** Composition de l'aliment source : CODAC de Jijel.

N°	Composants
1	Mais
2	Tourteau de soja
3	Phosphate bicalcique
4	C.M.V.chair
5	Calcaire
6	Son gros

**II.2.7. Le médicament :**

On a utilisé un seul médicament au début d'élevage qui est l'ERYTHRO\_VITA\_STRESS (EVS) contre l'anphalophlibite (inflammation du sac vitellin).

**II.2.8. Milieux de culture :**

Pour réaliser l'étude *in-vitro* aussi bien qu'*in-vivo* on a utilisé :

- La gélose nutritive : pour le dénombrement de la FTAM.
- Le milieu de Chapman : pour le dénombrement de *Staphylococcus*.
- Le milieu VRBG : pour le dénombrement des entérobactéries (CT, CTT).
- Les milieux King A, King B: pour le dénombrement des *Pseudomonas*.
- Les milieux MRS et M<sub>17</sub> : pour le dénombrement des bactéries lactiques.
- Le milieu OGA : pour la recherche des levures et moisissures.
- Le milieu TGEA : pour la recherche et le dénombrement de la FTAM dans l'eau.
- L'eau péptonnée tomponée : pour la pré enrichissement de *Salmonella*.
- .Le milieu HEKTOEN : pour l'isolement de *Salmonella* et *Escherichia coli*.
- Le milieu VF +2réactifs (alaine de fer +sulfite de sodium) : pour les *Clostridium*.
- Le milieu de citrate de SIMMONS.
- Le milieu urée indole et mannitol mobilité.
- Milieu de Clark et Lubs.

### II.2.9. Autres produits :

Au cours de notre travail nous avons utilisé :

- Violet de gentiane, lugol, alcool, fushine : pour la coloration de GRAM.
- Eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) : pour le test catalase.
- Sérum humain : pour le test coagulase.
- Milieu Moller ADH, LDC et ODC.
- Réactif de KOVACS.
- Bouillon lactosé 20%.
- Milieu TSI et BLBVB.
- $VP_I$  solution alcoolique d' $\alpha$  naphthol.
- $VP_{II}$  solution aqueuse de soude 16%.
- Phenolphtaleine 1%.
- La soude dornic (N/9).

### II.2.10. Autres matériel :

- Thermomètre pour prélever la température ambiante au sein de l'animalerie ;
- Une balance pour peser l'aliment et les poussins ;
- Un compteur de colonies ;
- Les disques de papier WATMAN N°=4 ;
- Etuve (WTB binder) ;
- Microscope optique (OLYMPUS) ;
- PH mètre ;
- Un mortier ;

## II.3. Méthodes :

### II. 3.1. Méthode d'élevage :

Une partie de l'animalerie est divisée en deux lots de  $2.4cm^3$  chacun. La surface de mangeoire est de  $800cm^2$ , celle de l'abrévoires est de  $400cm^2$ .

Chaque lot contient 37 poussins et muni de trois mangeoires et deux abrévoires. Donc chaque poussin dispose d'une surface de  $294.5cm^2$ , (figure 2).



**Figure 02 :** Préparation des lots.

L'expérience a été effectuée dans les conditions suivantes :

**a. Température :**

La température est contrôlée par des relevées quotidiennes grâce à un thermomètre placé à l'animalerie où s'est déroulée l'expérimentation.

**b. Éclairage :**

L'éclairage est assuré par la lumière de jour et une source de lumière électrique pendant la nuit.

**c. Ventilation :**

Elle est assurée par un ventilateur et une ventilation statique assurée par les fenêtres de l'animalerie.

**d. L'hygiène :**

L'évacuation de la matière fécale et les résidus de l'aliment sont effectués régulièrement à fin de protéger les animaux des maladies.

II.3.2. Préparation et utilisation du probiotique :

Chaque jour, 176ml de lait stérile estensemencé par le levain *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » et incubé à 37°C jusqu'à la coagulation (après 18 heures).

Ainsi on obtient notre probiotique que l'on conservé à 4°C.

Chaque jour et à même heure, 10ml de probiotique par litre d'eau a été utilisé pour les sujets du lot à probiotique, (figure 3).

La figure 3 illustre la méthode de préparation du probiotique.

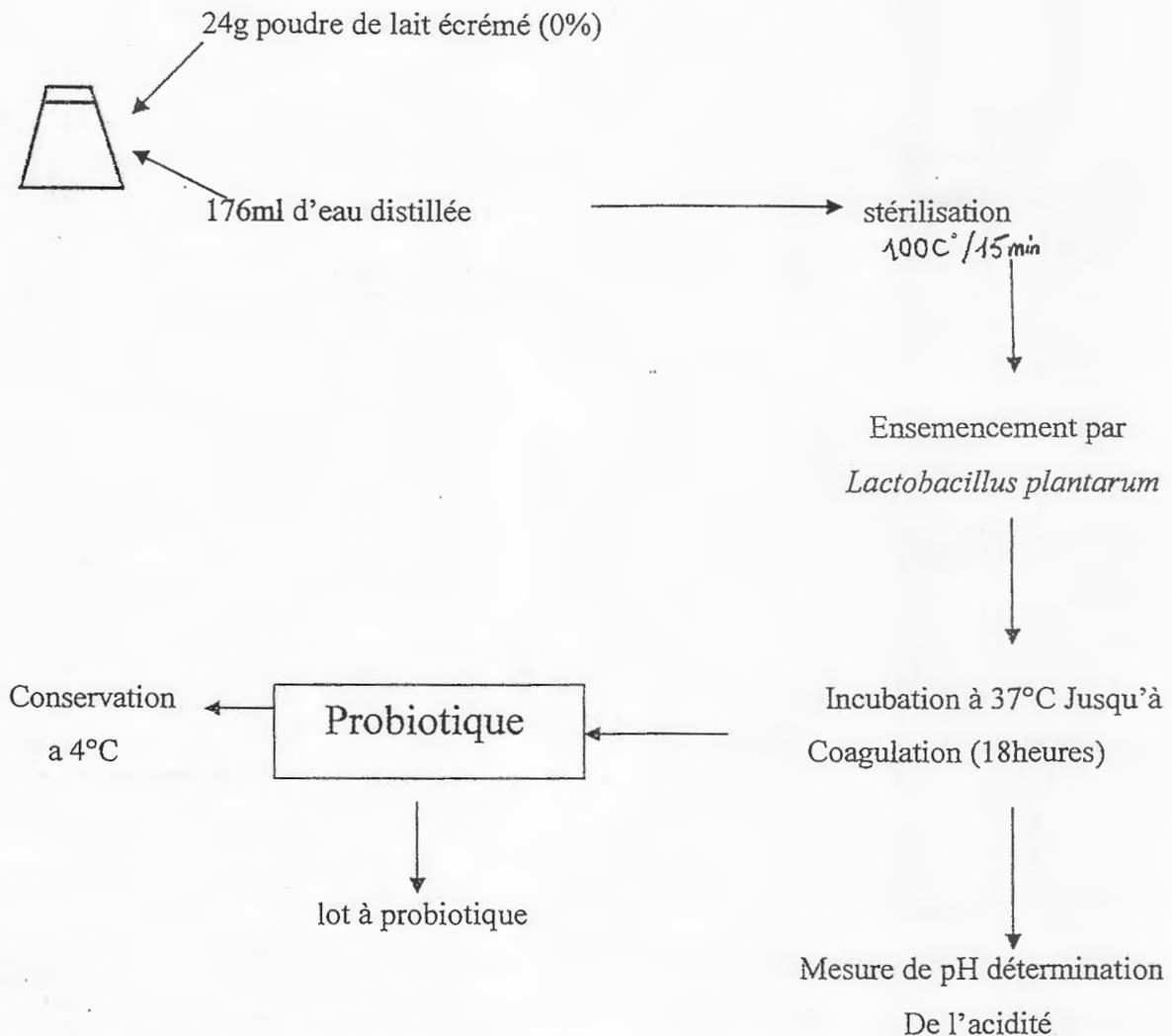


Figure 3 : Préparation du probiotique *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 »

- Pour l'étude de notre ferment, nous avons procédé à la détermination du pH et au dosage de l'acidité lactique.
- Pour mesurer le pH du probiotique préparé, nous avons utilisé le pH mètre, en plongeant l'électrode dans la prise d'essai, le résultat est enregistré directement sur l'écran.
- L'acidité est déterminée par titration d'un échantillon de 10ml, par la soude dornic (N/9) , en présence de 4 à 5 gouttes d'indicateur coloré (phénol phtaléine ), jusqu'à virage

à la couleur rose pâle qui doit persister au moins 10 secondes [3].

$$\diamond \text{ Acidité } ^\circ\text{D} = V \text{ NaOH} * 10$$

V NaOH : volume de la soude domnic utilisé pour titrer les 10ml.



**Figure 04:** préparation et utilisation du probiotique *Lb plantarum* "BJ0021".

### ▪ Dénombrement de *Lactobacillus plantarum* :

Il s'agit d'un dénombrement en surface sur milieu MRS.

On ensemence la gélose MRS coulée est refroidie par 1ml de la dilution  $10^{-11}$ , l'inoculum est étalé par un râteau stérile.

L'incubation se fait à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24h.

### II.3.3. Contrôle bactériologique de la qualité de l'eau et de l'aliment :

#### II.3.3.1. Echantillonnage :

##### • L'eau :

Il s'agit d'une eau connue, donc un échantillon de 300ml à 500ml est suffisant, avec l'utilisation de préférence des flacons de 250ml en verre ou en pyrex, munie d'un large col et d'un bouchon à vis en métal.

Notre technique de prélèvement est la suivante :

- Flamber énergiquement la portion du tuyau et purger la fraction stagnante.
- Déboucher le flacon et flamber le col.
- Remplir au 2/3 de la capacité du flacon, flamber a nouveau le col et reboucher, puis identifier l'échantillon.

##### • L'aliment :

En prélève une quantité indéterminée de l'aliment (prélèvement au hasard), au niveau du laboratoire, ou prélève un échantillon élémentaire de 4g.

#### II.3.3.2. Préparation des dilutions décimales [22] :

##### • L'eau :

Les étapes de la préparation des dilutions décimales sont résumés comme suit :

- Homogénéiser convenablement l'échantillon à examiner, puis à l'aide d'une pipette stérile prélever 1ml de produit.
- Introduire aseptiquement le volume à prélever dans un tube contenant 9ml du diluant, ainsi s'obtient une dilution au 1/10 ou  $10^{-1}$ , le tube est bien agité.
- A l'aide d'une nouvelle pipette stérile, prélever 1ml de la dilution 1/10, l'introduire dans un deuxième tube contenant 9ml de diluant ; ainsi s'obtient une dilution au 1/100 ou  $10^{-2}$ , on continue de la même façon pour obtenir la dilution  $10^{-5}$ .

- **L'aliment :**

Pour obtenir la solution mère, 4g de l'aliment sont broyés dans un mortier additionné de 40ml de l'eau physiologique stérile.

### II.3.3.3. Ensemencement :

Après la préparation des dilutions décimales, onensemence les boites de PETRI contenant des milieux de culture, l'ensemencement se fait en profondeur pour les flores anaérobies « entérobactéries » et en surface pour les flores aérobies ou aéro anaérobies.

### II.3.3.4. Les flores recherchées et dénombrées [15] :

- **Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FTAM) :**

- **L'eau :**

Il s'agit d'un dénombrement en surface sur milieu TGEA.

Deux séries de boites de PETRI sont ensemencées avec 1ml de la dilution  $10^{-4}$ , une série est incubée à 37°C pendant 24heures et l'autre série à 22°C pendant 24h à 72h.

- **L'aliment :**

Le dénombrement des germes se fait par étalement de 1ml de la dilution  $10^{-5}$  sur gélose nutritive. L'incubation est faite à 37°C/24h.

- **Résultats :**

Compter toutes les colonies en exprimant les résultats en gramme ou en ml du produit.

- **Dénombrement des coliformes totaux (CT) [9] :**

- **L'eau :**

Un dénombrement présomptif des coliformes totaux est réalisé sur bouillon lactosé à la bile et au vert brillant BLBVB avec cloche. Onensemence 2 tubes de BLBVB à double concentration par 10ml d'eau par tube, 2 tubes de bouillon simple concentration par 1ml d'eau par tube et 2 tubes de bouillon simple concentration par 0.1ml d'eau par tube.

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

➤ **Résultats :**

Les tubes où il y a fermentation du lactose (virage de couleur + production de gaz dans la cloche) sont considérés comme positifs. On dénombre les coliformes par la méthode du nombre le plus probable NPP (en se rapportant à la table de MAC GRADY).

➤ **L'aliment :**

Il s'agit d'ensemencer en profondeur 1ml de la dilution  $10^{-3}$ . Puis couler la gélose au désoxycholate 0.1% fondue et refroidie à 45°C et incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures.

➤ **Résultats :**

Toutes les colonies rouge lactose<sup>+</sup>, d'un diamètre d'environ 0.5mm sont considérées comme étant des coliformes.

▪ **Dénombrement des coliformes thermotolérants [9] :**

➤ **L'eau :**

On ensemence le milieu de SCHUBERT à partir des bouillons BLBVB présentant des signes de positivité, on incube à 44°C /24h. S'il y a un trouble + gaz, on ajoute le réactif de KOVACS.

➤ **L'aliment :**

Nous avons utilisé la même technique et le même milieu de culture que ceux de dénombrement des coliformes totaux, mais l'incubation est faite à 44°C pendant 24 heures.

➤ **Résultats :**

La présence des CTT se traduit par la production de gaz et l'apparition d'un anneau rouge avec le réactif KOVACS pour l'eau.

La présence de colonies rouges (rose) pour l'aliment.

▪ **Dénombrement des streptocoques fécaux [15] :**

➤ **L'eau :**

○ **Test présumé :**

Le dénombrement est réalisé sur le milieu de ROTHE (milieu à l'azide) : 2 tubes de milieu de ROTHE double concentration sont ensemencés par 10ml d'eau (10ml/tube) 2 autres tubes de milieu simple concentration par 1ml (1ml/tube). Et une dernière série par 0.1ml/tube. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures.

### o Résultats :

Les tubes positifs où il y a un trouble, sont présumés contenir un entérocoque et sont donc soumis au test confirmatif sur milieu de LITSKY.

Le dénombrement se fait à l'aide de la méthode du nombre le plus probable (NPP).

### ▪ Recherche des *Clostridium sulfitoréducteurs* et les anaérobies sulfitoréducteurs 46°C [9] :

#### ➤ L'eau :

Nous avons procédé à un traitement thermique au bain-marie à 80°C pendant 10 à 15 minutes de deux tubes, chacun contenant 5ml d'eau, ensuite, chacun des deux tubes reçoit 10ml de la gélose VF en surfusion, homogénéisée avec 2gouttes d'alum de fer et deux gouttes de sulfate de sodium, puis refroidit sous l'eau de robinet, enfin l'incubation est fait à 37°C/24h après une homogénéisation sans faire de bulles d'air.

La recherche des anaérobies sulfitoréducteurs 46°C se fait par la même méthode que les CLSR 37°C, mais sans procéder au traitement thermique avec une incubation à 46°C/24h à 72h.

#### ➤ Résultats :

La présence de ces germes (spores, formes végétatives) se traduit par un noircissement des tubes.

#### ➤ L'aliment :

Nous avons utilisé la même technique et le même milieu de culture que ceux de la recherche des CLSR 37°C et des ASR 46°C dans l'eau.

### ▪ Recherche et dénombrement des levures et moisissures [6] :

#### ➤ L'eau :

Pour la recherche des levures et moisissures, on a utilisé la gélose à l'oxytétracycline (OGA), l'ensemencement est réalisé en surface par étalement de 1ml de la dilution  $10^{-4}$ .

L'incubation se fait à 25°C pendant 3 à 5 jours.

#### ➤ Les levures :

Aspect souvent identique aux colonies bactériennes, elles peuvent avoir des bords régulier ou irrégulier, des formes convexes ou plates, elles sont pigmentées et souvent opaques.

➤ **Les moisissures :**

Colonies toujours pigmentées à aspect velouté plus ou moins proéminentes.

➤ **L'aliment :**

Pour la recherche des levures et moisissures, nous avons utilisé la même technique et le même milieu de culture. Sauf l'ensemencement est réalisé à partir de la dilution  $10^{-3}$ .

▪ **Recherche de *Salmonella* [15] :**

➤ **Pour L'eau :**

La recherche des *Salmonella* s'effectue par un pré enrichissement sur l'eau péptonnée et un isolement sur milieu sélectif classique HEKTOEN.

L'incubation se fait à 37°C/24h.

➤ **Pour L'aliment :**

Le pré enrichissement de 2grammes de l'aliment dans 20ml d'eau péptonnée. Après l'incubation à 37°C/24h, on fait un isolement sur milieu HEKTOEN.

▪ **Recherche des *Bacillus* :**

➤ **L'aliment :**

On ensemence 1ml de la solution mère dans un tube stérile contenant 9ml du milieu MOSSEL que l'on incube à 37°C pendant 24heures.

### II.3.4. Révivation et identification des souches :

La révivation des souches, consiste à réaliser des repiquages sur les bouillons nutritifs, pour des colonies bien distinctes et homogènes.

Les cultures en milieu liquide sont incubées à 37°C pendant 24h après incubation on a purifié par repiquage sur les milieux gélosés HEKTOEN (*Salmonella*, *E coli*) King A et King B (*Pseudomonas*) CHAPMAN (*Staphylococcus*) et MRS pour les bactéries lactiques.

Après incubation, les boîtes sont soumis à un examen macroscopique qui vise la taille des colonies, leur couleurs et formes sur leurs milieux sélectifs [8].

➤ **Tests d'identification :**

‡ **Examen microscopique :**

Il permet d'identifier les GRAM<sup>+</sup> et les GRAM<sup>-</sup> en examinant le frottis au microscope. Les bactéries qui retiennent le violet de gentiane après le lugol, l'alcool et la fushine sont dites GRAM<sup>+</sup>.

Les souches ont été soumises à la coloration de GRAM dont la technique est la suivante :

- On a prélevé une goutte de la suspension bactérienne puis on a étalé sur une lame.
- On a laissé séché en flambant légèrement jusqu'au séchage complet (fixation).
- La lame est recouverte de solution de violet de gentiane, on a laissé agir 01 minute.
- On a ajouté le lugol et on laisse agir pendant une minute.
- Décoloration de l'étalement bactérienne par l'alcool acétone.
- Lavage à l'eau courante.
- La recoloration de la préparation par la fushine diluée et prête à l'emploi 01 minute.
- Rinçage abondamment, séchage et observation à l'objectif 100 (à immersion).

### ⚡ Recherche d'une catalase :

Les catalases sont des ferroporphyrines de poids moléculaire élevé, qui existe chez toutes les bactéries aérobies, pour réaliser ce test, on a émulsionné la culture bactérienne à tester dans de l'eau oxygénée sur une lame, la présence d'une catalase se manifeste par l'apparition des bulles d'oxygène



### ⚡ Recherche d'une coagulase :

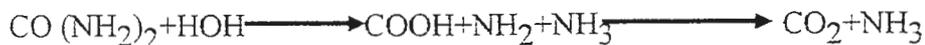
On a mit une goutte d'eau distillée stérile sur une lame, puis on a émulsionné une colonie distincte âgée de 18 à 24 heures (gélose CHAPMAN) une fois la lame est préparée, on mélange une goutte de sérum humain avec la culture.

L'apparition d'un coagulum blanc indique la présence d'une coagulase.

### ⚡ Métabolisme protéique et des acides aminés :

#### ➤ Recherche d'uréase et la production d'indole :

Certains germes élaborent une uréase extrêmement active, et peuvent utiliser l'urée comme seule source d'azote, produisant ainsi du  $\text{CO}_2$  et  $\text{NH}_3$ .



A partir de chaque milieu gélosés contenant la culture pure, on a ensemencé une ose de culture dans le milieu urée indole et on incube à  $37^\circ\text{C}/24\text{h}$ .

Le virage de l'indicateur de pH au rouge, l'alcalinisation du milieu témoigne la présence d'une uréase. Par la suite, on a ajouté 3 gouttes de réactifs d'Erlick-KOVACS le long des parois du tube.

On homogénéise et on laisse reposer.

La présence d'indole se traduit, par la formation d'un anneau rouge en surface.

### ➤ Recherche de l'arginine dihydrolase : (ADH)

L'arginine est décarboxylée en agmatine, puis hydrolysée en putrexine. On aensemencé le milieu MOELLER enrichi avec de l'arginine par une culture fraîche et on a porté à l'étuve à 37°C/24h.

L'apparition d'une couleur violette, témoigne la présence d'une ADH.

### ➤ Recherche de décarboxylase pour l'ornithine :

La décarboxylation de l'ornithine conduit au putrixine et libération de CO<sub>2</sub>.

On aensemencé le milieu MOELLER enrichi avec de l'ornithine par le germe à tester et on incube à 37°C/24h.

Le virage au violet indique la présence de ODC (la réaction est positive).

Le virage de la couleur au jaune indique l'absence de l'ODC la réaction est négative (le milieu reste acide).

### ➤ Recherche de la lysine décarboxylase (LDC) :

Certaines bactéries possèdent une décarboxylase qui agit sur un acide aminé particulier la lysine, en produisant la cadaverine qui réagit avec la ninhydrine en donnant une coloration violette.

On aensemencé le milieu MOELLER enrichi de la lysine par un ose de culture, puis on incube à 37°C/24h.

La présence d'une LDC se traduit par une coloration violette.

### ± Utilisation de citrate de SIMMONS :

La présence du citrate perméase chez les bactéries permet d'utiliser le citrate comme seule source de carbone. Cela entraîne l'alcalinisation du milieu de culture qui est révélé par le virage de l'indicateur coloré du vert au bleu.

On aensemencé le milieu citrate de SIMMONS en surface par stries longitudinale. Les tubes sont incubés à 37°C/24h.

Le développement bactérien s'accompagne avec le virage de la couleur du vert au bleu qui indique la présence d'une citrate perméase.

### ± Métabolisme glucidique :

#### ➤ Dégradation du mannitol (mannitol mobilité) :

Le mannitol est un produit dérivé du D-mannose. Sa dégradation est comparable à celle du glucose et conduit à la formation d'acide à chaînes très courtes, le milieu mannitol mobilité permet d'étudier outre la dégradation du mannitol. La mobilité

Permet d'étudier outre la dégradation du mannitol. La mobilité des germes et la présence d'une nitrate réductase.

On a ensemencé les tubes du milieu mannitol mobilité par piqûre centrale avec différentes souches.

L'incubation se fait à 37°C/24h.

Le virage de la couleur du milieu au jaune indique la fermentation du mannitol.

L'apparition d'un trouble au long de la strie indique que les germes ensemencés sont mobiles.

### ↳ Fermentation des sucres en milieu TSI :

Le milieu TSI est un milieu complexe qui permet la mise en évidence de plusieurs enzymes qui sont responsables de la dégradation du glucose, lactose, saccharose et des acides aminés. L'utilisation des sucres, acidifie de plus en plus le milieu.

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale dans le culot suivi par des stries superficielles sur la pente du milieu, après incubation à 37°C/24h. On fait la lecture.

- Glucose fermenté : le culot vire au jaune.
- Production du gaz, se traduit par la formation de bulles de gaz dans la masse du milieu et contre les parois, ou une poche gazeuse repoussant la totalité du milieu vers le haut.
- Lactose est fermenté : la pente vire au jaune.
- Les peptones et les acides aminés sont dégradés, la pente vire au rouge.
- Production du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) au dépens des acides aminés soufrés : le pente et le culot sont noirs.

### ➤ Utilisation du lactose :

A partir d'une culture fraîche, on ensemence une ose de cette culture dans le bouillon lactosé, la dégradation de lactose nécessite une enzyme intracellulaire, B-galactosidase, donc, le trouble qui apparaît après incubation 24h à 37°C indique que la souche possède l'enzyme B-galactosidase.

### ➤ Recherche de l'acétoïne :

La réaction de voges-proskawer permet de caractériser la présence d'acétyl-méthyl-carbinol ou acétoïne qui est un corps intermédiaire dans la formation du butylène glucol (=2.3butane diol).

On a ajouté 0.5ml VPI (0.5ml d' $\alpha$ -naphtol à 6% dans l'alcool absolu) et 0.5ml VPII (0.5ml d'une solution de potasse à 15% d'eau distillé) au 3ml de la culture sur

Milieu CLARK et LUBS.

Les tubes sont agités énergiquement, et laissés 5mn au maximum à la température ambiante. S'il y a apparition d'une coloration rose-rouge en surface, donc il y a production de l'acétoïne.

### II.3.5. Interaction entre *Lactobacillus plantarum* et les autres souches (*in-vitro*) [24]:

Pour réaliser ce test on aensemencé à partir de chaque milieu sélectif contenant les différentes souches : HEKTOEN (*Salmonella, Escherichia coli*) King A et King B (*Pseudomonas*), CHAPMAN (*Staphylococcus*), gélose nutritif (*Klebsiella, Proteus* et *Enterobacter*), une colonie bien distinct dans des tubes stériles contenant 5ml d'eau distillée stérile, puis chaque suspension bactérienne est ensemencée par inondation de milieu de culture correspondant, on récupère le surplus de cette suspension par une pipette stérile. On laisse sécher dans l'incubateur, après on imbibe les disques par la culture lactique que l'on dépose en surface des géloses déjà ensemencées. (Chaque boîte contenant 4 disques).

On refait le même mode opératoire sus-cité mais avec un croisement inverse c'est-à-dire les lactiques sont ensemencés par inondation de la gélose MRS et les autres souches sont imbibées sur disque de papier WATMAN.

La lecture se fait par la mesure de diamètre des zones d'inhibition après incubation à 37°C/24h.

### II.3.6. Evaluation de l'évolution de la flore endogène :

#### II.3.6.1. Echantillonnage [8] :

L'échantillonnage pour analyse microbiologique de la matière fécale du poussin, s'effectue en 4 endroits de 4g par endroit, le totale de prélèvement est de 16g pour chaque lot, on a mélangé le tout puis on a prélevé un échantillon élémentaire de 4g de la matière fécale de chaque lot.

#### II.3.6.2. Préparation des dilutions :

Pour obtenir la solution mère, 4g de la matière fécale de chaque lot, sont broyés dans un mortier additionné de 40ml de l'eau physiologique stérile.

La première dilution décimale ( $10^{-2}$ ) est obtenue en ajoutant 1ml de la solution mère à 9ml d'eau physiologique stérile.

On renouvelle le processus à partir de la dilution ( $10^{-2}$ ) pour avoir la dilution ( $10^{-3}$ ) et à partir de cette dernière on pousse les dilutions pour obtenir la dilution voulue.

### II.3.6.3. Ensemencement et dénombrement :

Après la réalisation des dilutions décimales, on ensemence les boîtes de PETRI contenant le milieu de culture, l'ensemencement se fait en profondeur pour les flores anaérobies (exemple : entérobactéries) et en surface pour les flores aérobies ou aéro anaérobies.

#### ▪ **Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) :**

Après avoir couler et refroidir la gélose nutritive, on prélève 1ml de la dilution choisie que l'on dépose à la surface du milieu de culture, et on étale avec un râteau stérile.

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

#### ▪ **Dénombrement des entérobactéries (CT et CTT) :**

On introduit au fond de chaque boîte de PETRI 1ml de la dilution choisie, puis on verse la gélose VRBG en surfusion et refroidi à 45°C.

On mélange et on laisse prendre en masse. Pour les CT, on incube à 37°C/24h alors que pour les CTT les boîtes sont incubées à 44°C/24h.

Toutes les colonies rouges de diamètre minime de 0.5mm en 24h sont considérées comme des entérobactéries (coliformes).

#### ▪ **Dénombrement des *Clostridium sulfito réducteurs* :**

On a utilisé la même technique décrite en (II.3.3).

L'incubation se fait à 37°C /24h.

Le *Clostridium* donne des colonies noires sur le milieu VF.

#### ▪ **Dénombrement de *Staphylococcus sp* :**

On coule la gélose CHAPMAN fondue au préalable et refroidi à 45°C dans des boîtes de PETRI, après solidification du milieu, on ensemence ces boîtes avec 0.1ml à partir de la dilution choisie, puis le répartir en surface à l'aide d'un râteau préparé en utilisant une pipette pasteur.

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

Le *Staphylococcus* donne des colonies jaunes sur ce milieu.

#### ▪ **Recherche des *Salmonella* :**

La recherche des *Salmonella* s'effectue par un pré enrichissement de 2g de la matière fécale dans 20ml d'un milieu sélectif, l'eau péptonnée, puis on incube pendant 24h à 37°C.

L'isolement est ensuite réalisé sur milieu sélectif classique HEKTOEN.

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

*Salmonella* donne des colonies vertes ou vertes à centre noir sur gélose HEKTOEN.

### II.3.6.4. test de fragilité [3] :

Ce test a été réalisé en parallèle avec l'évaluation de la flore endogène du poulet, pour chaque flore recherchée, en ensemence le milieu de culture correspondant par inondation, on récupère le surplus de l'inoculum.

On laisse sécher puis, on dépose des disques imprégnés de la culture du probiotique (*Lactobacillus plantarum* « BJ0021 ») a la surface des boites gélosés ensemencées.

On détermine le diamètre de zones d'inhibition après 24h d'incubation à 37°C.

### II.3.7. analyse microbiologique après abattage :

#### † Dénombrement de *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » et *Lactobacillus sp* :

Après éviscération, des parties de l'intestin, du gésier et du cloaque d'un sujet recevant le probiotique sont introduits dans des tubes de bouillon M<sub>17</sub>, l'incubation est fait à 37°C.

Après 24heures d'incubation on a réalisé des dilutions jusqu'à 10<sup>-20</sup>, ensuite on ensemence les milieux solides M<sub>17</sub> et MRS.

L'incubation se fait à 37°C /24h.

La lecture consiste à voir l'aspect des colonies sur ces milieux de culture et faire une coloration de GRAM, suivie du test catalase.

### II.3.8. paramètres zootechniques [4] :

Nous avons suivi l'évolution de certains paramètres zootechniques au cours de l'élevage et qui sont les suivants :

#### II.3.8.1. pesée des animaux :

Les poussins sont pesés après la phase d'adaptation (12<sup>eme</sup> jour). Puis une fois par semaine à jour et heure fixes jusqu'à l'age de l'abattage (52<sup>eme</sup> jour).

#### II.3.8.2. pesée de l'aliment et relevés de quantités d'eau consommées :

La pesée de l'aliment était effectuée quotidiennement à la même heure, nous pesons l'aliment restant dans les mangeoires et celui gaspillé pour faire ressortir la quantité ingérée. Nous procédons de la même manière pour déterminer la quantité d'eau utilisée par les animaux.

**Quantité consommée (g) = quantité distribuée (g) – quantité refusée (g)**

### II.3.8.3. paramètre de croissance :

#### + Indice de consommation (I.C) :

C'est le rapport entre la quantité consommée d'aliment et le gain de poids :

$$\text{I.C} = \frac{\text{Quantité consommée d'aliment}}{\text{Gain de poids}}$$

#### + Poids vif :

C'est le rapport entre l'ensemble des pesés et le nombre de sujets dans le lot :

$$\text{Poids vif moyen (g)} = \frac{\text{Ensemble des pesés (g)}}{\text{Nombre de sujets dans le lot}}$$

#### + Le gain moyen quotidien (G.M.Q) :

C'est la différence entre le poids moyen en fin de semaine et celui du début de semaine sur 7jours.

$$\text{G.M.Q} = \frac{\text{Poids moyen fin de semaine} - \text{poids moyen au début de semaine}}{7\text{jours}}$$

#### + Taux de mortalité (T.M) :

C'est le rapport entre le taux de sujets morts durant la période de l'élevage et l'effectif initial multiplié par 100.

$$\text{T.M} = \frac{\text{Taux de sujets mort durant la période de l'élevage}}{\text{Effectif initial}} * 100$$

### II.3.8. paramètres de carcasse [4] :

Pour l'évaluation de ces paramètres, on a procédé à l'abattage du presque 1/3 de chaque lot (7sujets/lot) ; (figure 05).



**Figure 05:** Les sujets à abatter.

➤ **Poids de la carcasse chaude après éplumage :**

C'est le poids de la carcasse 15 à 30 minutes après l'abattage, la carcasse n'inclut pas le sang, mais elle inclut les autres parties.

➤ **Poids de la carcasse chaude après éviscération :**

C'est le poids de la carcasse après débarrassage de la tête, des pattes et du cinquième quartier.

➤ **poids de la carcasse commerciale :**

C'est le poids de la carcasse décrite auparavant conservée 24 heures dans une chambre froide à 4°C.

➤ **poids des différents organes :**

C'est le poids de chaque organe séparé des autres, c'est celui du cœur, de la graisse entourant le cloaque, du gésier et du foie.

- **Poids de tube digestif :**

C'est le poids des différentes parties de tube digestif à partir du jabot jusqu'au cloaque.

### **II.3.9. analyse statistique :**

L'analyse statistique de nos résultats a été réalisée par une analyse de variance en utilisant le dispositif monofactoriel en randomisation total aux seuils de 5% et 1% (test de NEWMAN KEUILS) suivi d'une comparaison des moyennes.

**Partie**

**III**

**RÉSULTATS ET DISCUSSION**

### III.1. Préparation et utilisation du probiotique :

La culture de notre probiotique sur le lait écrémé à présente les caractéristiques suivantes :

Le pH du lait était de 3,95.

L'acidité lactique était de 95°D.

Le nombre approximatif de *Lactobacillus plantarum* sur le milieu MRS gélose était de  $65 \cdot 10^{11}$  colonies/ml de lait après 18heures d'incubation à 37°C.

Nous signalons que la préparation du probiotique se fait chaque jour pour assurer la survie des bactéries évitant ainsi le vieillissement du probiotique.

### III.2. Qualité bactériologique de l'eau et l'aliment :

D'après le tableau 5, on constate l'absence totale des germes suivants : *Clostridium*, les coliformes thermotolérants et les coliformes totaux, *Streptococcus*, *Salmonella* dans l'eau analysée. Par ailleurs on a comptabilisé 34 colonies pour les flores aérobies mésophile totale à 37°C, à température d'incubation 22°C on a eu 28 colonies/ml d'eau. Enfin il y a apparition de 18 colonies levuriennes.

Par ailleurs et par comparaison de nos résultats aux normes, on constate que la qualité microbiologique de cette eau est acceptable donc l'eau de l'animalerie est potable.

A partir des résultats du même tableau, on constate l'absence totale des *Bacillus*, *Salmonella*, *Clostridium* et la présence de 19 colonies de CT, 18 colonies pour la FTAM et 12 colonies pour les levures et moisissures.

Donc l'aliment n'est pas contaminé par des germes pathogènes [*Salmonella*, *Bacillus*].

Tableau 5 : Evaluation de la flore bactérienne de l'eau et l'aliment (c/ml et c/g).

	FTAM		CT	CTT	Streptocoques fécaux	Clostridium		Salmonella	Bacillus	Levures et moisissures
	37°C	22°C				ASR 46°C	CSR 37°C			
Eau			00	(-)	(-)			(-)	/	18
	34	28				(-)	(-)			
Normes	20	<10 <sup>2</sup>	<10	/	(-)	1	(-)	(-)	(-)	/
Aliment	18*10 <sup>12</sup>		19*10 <sup>3</sup>	-	/	(-)	(-)	(-)	(-)	12

C : colonies.

(-) : absence.

### III.3. Composition de l'aliment :

D'après les données relatives à la composition de l'aliment portées sur le tableau 4 nous constatons le suivant :

- L'aliment contient, les différents nutriments : protéines (tourteau de soja), glucides (maïs), élément minéraux (calcaire, phosphore, bicalcique), vitamines (C.M.V) et fibres (son gros).
- La proportion de la composition change en fonction de l'âge du poussin (cette information n'a pas été fournis par le responsable de l'établissement « CODAC »).
- Il apparaît clairement, que l'aliment de démarrage-croissance va fournir une grande part en source protéique (tourteau de soja prend le dessus) du moment que le poussin a besoin de cette source pour augmenter le volume tissulaire d'autre part, il est évident qu'au cours de la phase de finition, on va trouver une proportion élevée en maïs car c'est une source d'énergie nécessaire à la synthèse de graisse par le poulet.

### **III.4. Révéfification et identification des souches :**

#### **III.4.1. Examen microscopique :**

L'examen de préparation microscopique révélé par la coloration de GRAM nous a permis de distinguer une diversité de formes des différentes souches à identifier :

- Pour les bactéries lactiques, la forme observée est bâtonnet (*Lactobacillus*), cette forme à une couleur violette (GRAM<sup>+</sup>).
- Pour *Salmonella*, *E.coli* et *Enterobacter*, les formes observées sont des Coccobacilles, ces formes de bactéries ont une couleur rose (GRAM<sup>-</sup>).
- Pour les *Staphylococcus* les formes observées sont des coques disposées en ammat de la forme du grape de raisin, ces formes ont la couleur violette (GRAM<sup>+</sup>).
- Pour les *Pseudomonas*, les formes observées sont des cocci disposées par Pair et en chaînette dont des cocci disposées par et en chaînette dont leur couleur est rose (GRAM<sup>-</sup>).
- Pour *Proteus* et *Klebsiella*, les formes observées sont des bacilles, ces formes de bactéries ont une couleur rose (GRAM<sup>-</sup>).

#### **III.4.2 Tests biochimiques :**

Le tableau 6 regroupe les résultats de l'identification de la souche lactique, et des autres souches, de *Salmonella* (*salmonellaB41*, *SalmonellaB42*), de *Staphylococcus* (43866,43300), *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, et *E.coli*

Les tests d'identification de la bactérie lactique montre que c'est une bactérie à GRAM<sup>+</sup>, fermente le lactose sans production du gaz, c'est une bactérie qui ne possède pas de catalase, ne produise pas l'indole et ne dégrade pas le citrate, elle possède un complexe enzymatique \*Décarboxylase, Déhydrolase\* de la lysine, l'ornithine et l'arginine et elle utilise le mannitol.

Tableau 6 : Les tests de l'identification des différentes souches étudiées.

	GRAM	Coagulase	Catalase	Urée indole	ADH	ODC	LDC	Citrates de SIMMONS	Mannitol mobilité		Lactose		TSI			
									mannitol	mobilité	Lactose	gaz	Glu	Lac	gaz	H <sub>2</sub> S
<i>L.b plantarum</i>	GRAM <sup>+</sup>	/	-	/	+	/	/	/	/	/	+	-	/	/	/	/
<i>Salmonella B41</i>	GRAM <sup>-</sup>	/	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Salmonella B42</i>	GRAM <sup>-</sup>	/	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Staph 43866</i>	GRAM <sup>+</sup>	-	+	/	/	/	/	/	+	+	-	-	/	/	/	/
<i>Staph 43300</i>	GRAM <sup>-</sup>	+	+	/	/	/	/	/	+	+	-	-	/	/	/	/
<i>Pseudomonas</i>	GRAM <sup>-</sup>	/	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	/	/	/	/
<i>E coli</i>	GRAM <sup>-</sup>	/	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Proteus</i>	GRAM <sup>-</sup>	/	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>Enterobacter</i>	GRAM <sup>-</sup>	/	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella</i>	GRAM <sup>-</sup>	/	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-

*Lb* : *Lactobacillus*.



Figure 06 : profil d'identification d'*Enterobacter*.



Figure 07 : profil d'identification d'*E coli*.



Figure 08 : profil d'identification de *Klebsiella*.



Figure 09 : profil d'identification de *Proteus*.



Figure 10 : profil d'identification de *Pseudomonas*.

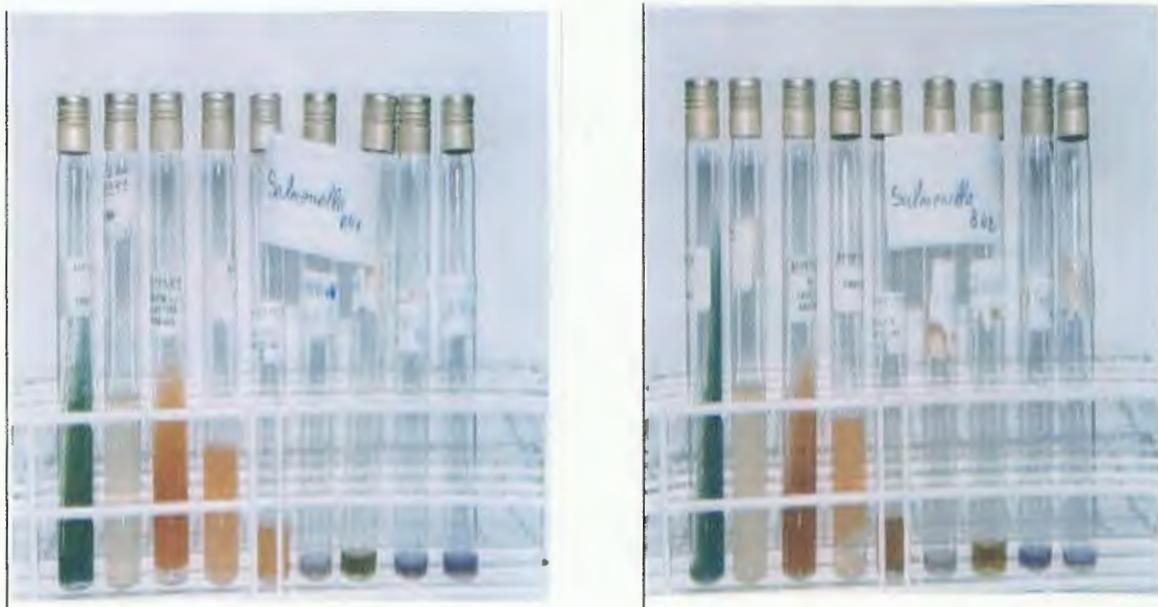


Figure 11 : profil d'identification de la souche *Salmonella*.

Reste à noter que le tableau montre les principaux tests de l'identification des entérobactéries étudiées en plus du *Staphylococcus*.

La coloration du GRAM montre que les entérobactéries sont des bacilles (*Pseudomonas*, *Klebsiella*), ou coccobacilles (*E coli*, *Salmonella* et *Enterobacter*) à GRAM<sup>-</sup>.

Toutes les bactéries testées sont capables d'utiliser le mannitol et prouvent leur mobilité à l'exception de *Klebsiella* et *Lb plantarum*.

Ces bactéries dégradent aussi le glucose sans production de gaz à l'exception d'*E coli* et *Enterobacter*, toutes les bactéries sont H<sub>2</sub>S<sup>-</sup> sur le milieu TSI.

Les souches d'*E coli*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* et *Proteus* ont le pouvoir de dégrader le tryptophane avec production d'indole, ces bactéries en plus des deux souches de *Salmonella* sont capables d'utiliser le citrate comme source de carbone du milieu citrate de SIMMONS.

Ces bactéries sont différentes vis-à-vis de pouvoir de décarboxylation ou déshydroxylation de lysine, Ornithine et l'arginine.

- Elles sont LDC<sup>+</sup> pour *Salmonella*B41, *Staphylococcus* 43866, *Staphylococcus* 43300, *Pseudomonas*, *Proteus* et *Enterobacter*.
- ODC<sup>+</sup> pour *Staphylococcus*43866, *Staphylococcus*43300, *Enterobacter* et *Proteus*.
- ADH<sup>+</sup> pour *Salmonella*B41, *Staphylococcus*43300 et *Proteus*.

Le test catalase montre que toutes les bactéries possèdent cet enzyme respiratoire à l'exception du *Pseudomonas*.

Enfin, pour l'identification du *Staphylococcus* qui sont des coques a GRAM+ (d'après la coloration du GRAM), on a constaté l'existence de deux groupes de *Staphylococcus* distinguer par la présence ou l'absence d'enzyme coagulase<sup>-</sup> dont la souche *Staphylococcus*43866 est coagulase<sup>-</sup> et *Staphylococcus*43300 est à coagulase<sup>+</sup>.

### **III- 5- Les interactions bactériennes:**

Les tableaux 7 et 8 représentent les résultats obtenus concernant les interactions entre la souche *Lactobacillus plantarum* « BJ0021 » et les souches bactériennes *E Coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* et *Proteus*.

Après incubation 24<sup>h</sup> à température 37°C, on a observé des zones d'inhibition autour des disques imprégnés, soit par la bactérie lactique déposée sur différents milieux ensemencés par les souches bactériennes, soit autour des disques imprégnés par les différentes bactéries déposées sur les milieux MRS ensemencé par *Lb plantarum*.

Donc la zone d'inhibition est apparue quand deux souches différentes sont mis en contacte l'une de l'autre.

**Tableau 7:** résultats des interactions sur milieux solides.

Le diamètre de disque=0.6cm

Différentiels souches ensemencées sur différents milieux gélosés	Disque imbibé par	Diamètre de la zone d'inhibition
<i>Salmonella</i> B41	<i>L.b plantarum</i>	0.7 cm
<i>Salmonella</i> B42	<i>L.b plantarum</i>	1.3cm
<i>Staphylococcus</i> 43300	<i>L.b plantarum</i>	1.2cm
<i>Staphylococcus</i> 43866	<i>L.b plantarum</i>	1cm
<i>Pseudomonas</i>	<i>L.b plantarum</i>	1.2cm
<i>Proteus</i>	<i>L.b plantarum</i>	1.3cm
<i>Enterobacter</i>	<i>L.b plantarum</i>	03cm
<i>E coli</i>	<i>L.b plantarum</i>	1.6cm
<i>Klebsiella</i>	<i>L.b plantarum</i>	1.2cm

**Tableau 8:** Résultats des interactions sur milieux solides.

Le diamètre de disque=0.6cm

Gélose MRS inondée par	Disque imbibés par	Diamètres des zones d'inhibition
<i>L.b plantarum</i>	<i>Salmonella</i> B41	1cm
<i>L.b plantarum</i>	<i>Salmonella</i> B42	0.8cm
<i>L.b plantarum</i>	<i>Stophylococcus</i> 43300	1cm
<i>Lb plantarum</i>	Stophylococcus 43866	0.9cm
<i>L.b plantarum</i>	<i>Pseudomonas</i>	0.7cm
<i>b plantarum</i>	<i>Proteus</i>	1cm
<i>L.b plantarum</i>	<i>Enterobacter</i>	0.8cm
<i>L.b plantarum</i>	<i>E-coli</i>	1.2cm
<i>L.b plantarum</i>	<i>Klebsiella</i>	0.9cm

Par ailleurs, les résultats obtenus montrant que les diamètres des zones d'inhibition, les plus larges sont ceux représentés dans le tableau 7.

Une bonne acidification lactique, entraîne une inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, des *Pseudomonas*, des *Salmonella* et des Clostridies, si le pH n'est pas maintenue constant, c'est l'ion  $H_3O^+$  qui est inhibiteur [10].

- La compétition vis-à-vis du substrat: lorsque plusieurs souches, sont mise en culture dans un même milieu elle entrent nécessairement en compétition, si elle utilise le même substrat [2].

Le deuxième tableau inclus les mesures de diamètres des zones d'inhibition autour des disques imbibés par les différentes souches bactériennes, dont le diamètre minimum est obtenue avec la souche de *Pseudomonas* estimé à 0.7cm de diamètre, par ailleurs, avec *Enterobacter* et *Salmonella* B42 il est de 0.8cm et avec *Klebsiella* 0.9cm.

La zone d'inhibition la plus large est de 1.2 cm de diamètre avec *E-coli*.

Donc, on peut dire que *L.b plantarum* est plus résistante vis-à-vis des bactéries testées, surtout pour *Pseudomonas* qui ne possèdent presque aucun effet sur *L.b plantarum*.

### III-6- test de fragilité:

D'après les résultats répertoriés sur le tableau 9 il en ressort le suivant:

- pour le lot témoin:
  - Au cours des 06 semaines, on a eu une fréquence de 04/6 de la présence des zones d'inhibition sur la Gélose nutritive, avec des diamètres moyen de 1.4cm, pour le reste il y a eu à noter un phénomène de symbiose.
  - Sur le milieu VRBG incubé à 37°C et à 44°C, il y a une présence permanente des zones d'inhibition avec un diamètre qui axile entre 0.7cm et 1.4cm.
  - Une seule zone d'inhibition a été obtenue en  $S_2$  estimé a 0.8cm sur le milieu Gélose de CHAPMAN.
  - Sur la Gélose HEKTOEN, la fréquence de la zone d'inhibition était équitable a son absence (3/3) avec un diamètre maximal de 1.8cm.
  - Enfin, pour le milieu de culture des *Clostridium*, il y'a eu à noter des inhibitions entre le probiotique et la culture bactérienne qui s'est développée durant quatre semaines.

- Pour le lot probiotique :

Il apparaît clairement qu'il y'a un effet très marqué par l'augmentation visible de la fréquence des zones d'inhibition, ainsi on a constaté le suivant:

- Sur la Gélose nutritive, et à partir de la 2<sup>ème</sup> semaines, il y'a une présence d'antagonisme entre le probiotique et la flore cultivée sur ce milieu, on a en une fréquence de 04/6 des zones d'inhibitions.
- Sur le milieu VRBG incubé à 37°C et à 44°C, il y a une présence permanente des zones d'inhibitions avec un diamètre qui axile entre 0.7cm et 1.1cm.
- Sur le milieu de CHAPMAN, 03 zones d'inhibition ont apparu durant les 06 semaines de diamètres compris entre 0.8 et 0.9cm.
- Sur la Gélose HEKTOEN, il apparaît clairement, l'augmentation de fréquence d'inhibition par comparaisant au lot témoin sur le même milieu, il y'a eu à 06/7 de ces zones.

Tableau9: résultat du test de fragilité.

	10 <sup>-3</sup>	Gélose nutritive	Gélose VRBG	Gélose VRBG (44°C)	Gélose CHAPMAN	Gélose HEKTOEN	Gélose Viande-Foie
Lot <sub>1</sub> témoin	S <sub>2</sub>	Zone d'inhibition Ø = 1.7 cm	Zone d'inhibition Ø = 1 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm
	S <sub>3</sub>	Zone d'inhibition Ø = 1.3 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.4 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.2 cm	Co-habitation	Zone d'inhibition Ø = 1 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm
	S <sub>4</sub>	Croissance normale	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.2 cm	Croissance normale	Croissance normale	Croissance normale
	S <sub>5</sub>	Zone d'inhibition Ø = 1.2 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.1 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.1 cm	Co-habitation	Co-habitation	Zone d'inhibition Ø = 1 cm
	S <sub>6</sub>	Co-habitation	Zone d'inhibition Ø = 1.1 cm	Zone d'inhibition Ø = 1 cm	Croissance normale	Croissance normale	Croissance normale
	S <sub>7</sub>	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.1 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm	Co-habitation	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm
Lot <sub>2</sub> probiotique	S <sub>2</sub>	Co-habitation	Zone d'inhibition Ø = 1.1 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 3.2 cm
	S <sub>3</sub>	Zone d'inhibition Ø = 1 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm
	S <sub>4</sub>	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm	Zone d'inhibition Ø = 1 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.1 cm	Croissance normale	Zone d'inhibition Ø = 1 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm
	S <sub>5</sub>	Zone d'inhibition Ø = 1 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.2 cm	Zone d'inhibition Ø = 1.1 cm	Co-habitation	Co-habitation	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm
	S <sub>6</sub>	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.9 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Croissance normale
	S <sub>7</sub>	Zone d'inhibition Ø = 0.8 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm	Co-habitation	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm	Zone d'inhibition Ø = 0.7 cm

S : semaine.

- Sur le milieu Viande-Foie et au cours des 06 semaines on a eu la présence de 05 zones d'inhibition, avec un diamètre maximal de 3.2 en 2eme semaine pour la 6<sup>eme</sup> semaines on a noté la présence d'un phénomène de symbiose.

Les résultats obtenus peuvent être liés à [2] :

- production des bactériocines et les antibiotiques par *L.b plantarum* [2].
- Compétition vis-à-vis des facteurs de croissance [2].
- Le pH et les acides notamment l'acide lactique produise par la bactérie lactique *L.b plantarum* [2].

### III-7- Effet du probiotique sur la flore endogène du poulet:

#### III-7-1- Evolution du nombre de la flore mésophile totale (FTAM)

Le tableau ci-dessous 10 exprime les résultats concernant le dénombrement de la flore mésophile total dans la matière fécale des poulets.

Nous observons que le membre de la FTAM est augmenté par administration du probiotique. L'optimum de cette flore excrétée est très marque au cours de la 5<sup>eme</sup>, la 6<sup>eme</sup> et la 7<sup>eme</sup> semaine.

Ces observations n'ont qu'une seule explication, c'est l'interaction entre l'effet de *L.b plantarum* et l'effet troubles digestifs.

C'est ainsi que la présence de *L.b plantarum* au niveau du tractus gastro-intestinal, joue un rôle biorégulateur sur la flore sensible à la chute du pH, c'est-à-dire sensible à l'acide lactique.

Pour le lot témoin on observe la présence d'un tapis bactérienne au cours des 7 semaines d'élevage, cela témoigne une perturbation de l'équilibre de l'écosystème du tube digestif de ces sujets.

**Tableau 10:** Evolution du nombre de la FTAM

N x 10<sup>15</sup> germes /g de matière fécale.

Lot \ période	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>
Témoin	0.0025	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis
probiotique	—	0.072	0.005	45 x 10 <sup>3</sup>	84 x 10 <sup>15</sup>	1680 x 10 <sup>25</sup>	260 x 10 <sup>35</sup>

### III-7-2- Dénombrement des Entérobactéries:

Le tableau 11 représente l'évolution du nombre des entérobactéries chez les poulets des deux lots.

Il apparaît clairement que la courbe du 2<sup>ème</sup> lots est caractérisée par 2 pics, le premier à la 3<sup>ème</sup> semaine et le deuxième à la 6<sup>ème</sup> semaine, ce qui correspond à un nombre très élevé de germes chassés vers l'extérieure avec une différence significative entre les deux lots ( $p < 0.01$ ).

Ce résultat est intimement lié à l'apparition des diarrhées au cours de ces périodes et l'effet du probiotique.

Par la suite, on observe une réduction du nombre de germe excrète avec la matière fécale (au cours de reste des semaines), pour les deux lots, selon les variations du nombre de *L.b plantarum* qui sont inversement proportionnel (quant le nombre de *L.b plantarum* augmenté le nombre des entérobactéries diminue et l'inverse est vrai).

Ceci est probablement lié à la production d'acides organiques à partir des glucides de la ration alimentaire tels que l'acide lactique ou l'acide acétique qui va abaisser le pH du tractus digestifs et cela va se repercuter sur le nombre de coliforme excrété et chassé vers l'extérieur.

- La différence hautement significative, témoigne l'effet de l'inhibition du probiotique vis-à-vis des entérobactéries (flore de contamination fécale). les résultats obtenus se concordent avec les données bibliographiques, ainsi, certains auteurs rapportent Qu'il y a un antagonisme entre les bactéries lactiques et les bactéries coliforme ainsi bien *in-vitro* que *in-vivo* [3].

D'autres auteurs signalent que l'ingestion de bactéries lactiques peut contrer l'effet de la prolifération des coliformes thermotolérants et particulièrement *E coli* [3].

- enfin on conclut que le lot supplémenté de probiotique *L.b plantarum* "BJ0021" est considéré comme le meilleur par des résultats et des effets positifs sur le nombre de germes trouvée dans la matière fécale.

Tableau 11 : Evolution du nombre des Entérobactéries  
(Nx10<sup>3</sup> germe/g de matière fécale).

Lot \ période	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>
Témoin	38000	60	25000	0.34	238	14200	10.5
probiotique	–	200	28000	0.496	70	2900	600

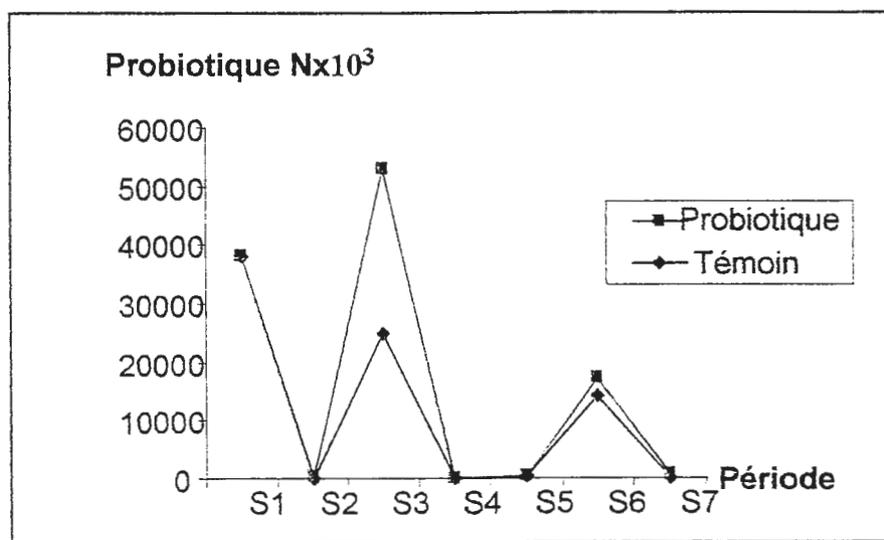


Figure 15: Evolution du nombre des entérobactéries

III-7-3- dénombrement de *Lactobacillus plantarum*:

Le tableau 12 représente le nombre approximatif de *Lactobacillus* trouvé dans la matière fécale du poulet en période d'élevage.

D'après ces résultats, il apparaît clairement que le nombre du probiotique trouvé dans la matière fécale est en augmentation permanente au cours de la période d'élevage (sauf la 6<sup>ème</sup> semaine), cela est probablement lié à des interaction avec la flore endogène du poulet, à son inadaptation aux conditions du tube digestif du poulet, au condition de l'élevage (température élevé, surface réduite...), ou encore à sa prolifération au cours de son passage au différents étages du tube digestif, toutefois, ces résultats nous laisse supposer que notre probiotique peut résister aux différentes conditions hostiles du tube digestif du poulet.

La résistance des bactéries probiotique à l'acide gastrique et aux sels biliaires dépend des souches bactériennes.

CONWAY et *al.*, ont démontré que la résistance des microorganismes au jus gastrique était variable d'un germe à l'autre et augmentait avec la présence de nourriture en même temps que le probiotique. De même l'étude a montré l'existence des différences d'une souche à l'autre [17].

D'autre part le pH optimal de croissance des *Lactobacillus* est compris entre 5.5 à 6.2 et la croissance se poursuit jusqu'à pH5, et parfois au dessous [6].

**Tableau 12 :** Evolution du nombre de *Lactobacillus*  
(Nx10<sup>10</sup> germe de matière fécale)

Lot \ période	S <sub>1</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>
probiotique	80	200	42x10 <sup>4</sup>	59x10 <sup>2</sup>	46x10 <sup>2</sup>	66x10 <sup>4</sup>

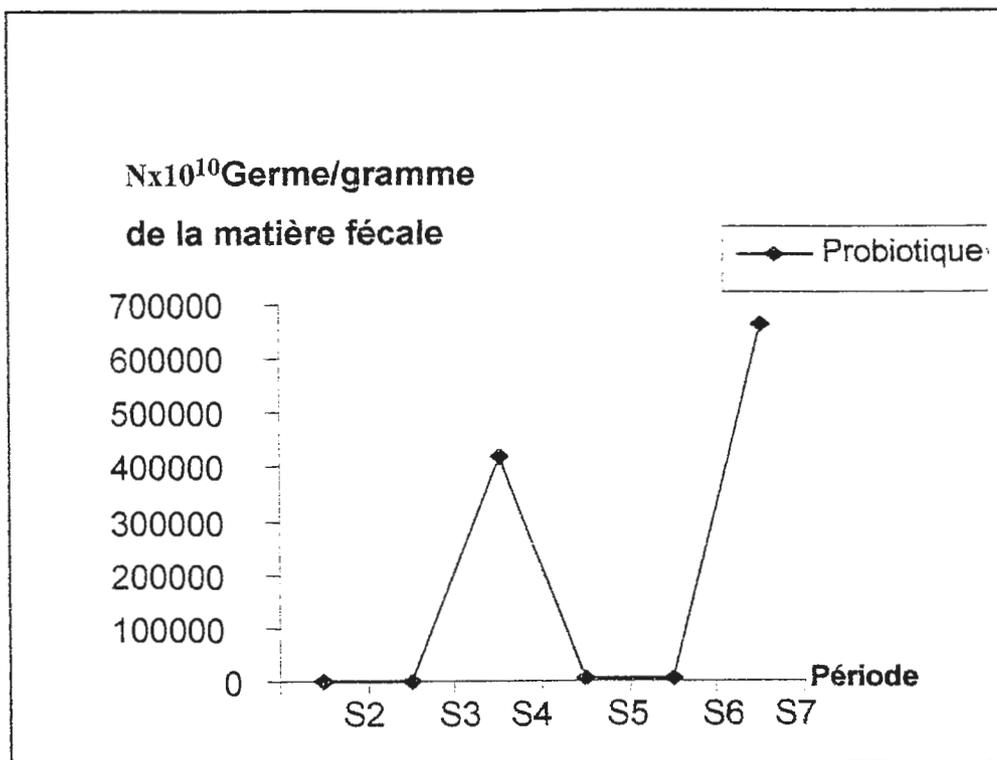


Figure 16: Evolution du nombre de *Lb plantarum* au cours de l'élevage

### **III.7.4. Recherche et dénombrement des *Clostridium*, *Salmonella* et *Staphylococcus* :**

Au cours de la période de l'élevage, l'analyse microbiologique n'a révélé aucune présence des germes sus-cités, cela est probablement liée à la présence du probiotique dans le contenu digestif de poulet et ces effets antagonistes.

- Les bactéries probiotiques doivent essentiellement jouer deux rôles au niveau du tractus digestif: améliorer la digestibilité de la ration alimentaire et maintenir les bonnes conditions sanitaire. Il est donc important que ces bactéries soient capables d'inhiber le développement des germes indésirables [6].
- Soit par la production de substance antagonistes de type bactériocines ou autre tels que les acides organiques, et le peroxyde d'hydrogène [6].
- Soit en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale [6].

De même, la présence de bactéries lactiques entraîne une inhibition de la croissance de *E coli*, des *Pseudomonas*, des *Salmonella* et des *Clostridia* [3].

Les mêmes auteurs rapportent que certaines bactéries lactiques exercent un antagonisme et présente des propriétés inhibitrices à l'égard des *Staphylococcus* et des *Clostridium* [3].

### **III-8- Les paramètres zootechnique:**

#### **III-8-1- Ingestion d'aliment:**

Les quantités moyennes consommées par semaine, illustrées par le tableau 13 sont marquées par des valeurs croissantes jusqu'à la 5<sup>eme</sup> semaine où on remarque une stabilité de la quantité de l'aliment consommé. Cela est due probablement à la température élevée enregistrer au niveau de l'animalerie.

L'augmentation visible de l'ingéré moyen dans les deux lots est confirmée par les résultats obtenus par LEBAS et al., (1990) qui constatent une évolution de l'ingère en fonction de l'âge pour les poussin de 3 à 8 semaine.

Durant toute la période de l'élevage, les poussins à probiotique *Lactobacillus plantarum* "BJ0021" possèdent les écarts les plus faibles par rapport à ceux du lot témoin.

Ainsi, au cours de la période de l'élevage, on a économisé une quantité de 3440 g de l'aliment avec les sujets à probiotique, cela est probablement lié à l'effet du probiotique qui agit en faveur du transit digestif et par l'amélioration de la digestibilité chez les poussins.

Cela dit et d'après les résultats obtenus, il apparaît clairement que le probiotique agit positivement sur la quantité de l'aliment ingérée donc sur le coût de production d'un kg de viande blanche.

L'analyse de variance a montré que l'adjonction du probiotique dans la ration de poussins a un effet hautement significatif sur la quantité de l'aliment consommée, de même la durée de l'élevage agit significativement sur le même paramètre ( $p < 0.01$ ).

Par ailleurs la comparaison des moyennes a montre l'existence de deux groupes de poussins hétérogènes vis-à-vis de l'aliment consommé.

**Tableau 13:** Evolution des quantités d'aliment ingérée (en g).

Régime période	Témoin	Probiotique	Signification statistique	
S <sub>1</sub>	2583.34 ± 377.96	2421.43 ± 377.96	* à **	P < 0.01
S <sub>2</sub>	3585.72 ± 577.35	3317.15 ± 577.35		
S <sub>3</sub>	4842.86 ± 267.26	4492.86 ± 449.86		
S <sub>4</sub>	6614.29 ± 1154.70	6450 ± 1154.70		
S <sub>5</sub>	7485.72 ± 899.73	7238.57 ± 899.73		
S <sub>6</sub>	7285.71 ± 534.52	7278.57 ± 155.92		
<b>Signification statistique</b>	* à ** p < 0.01			

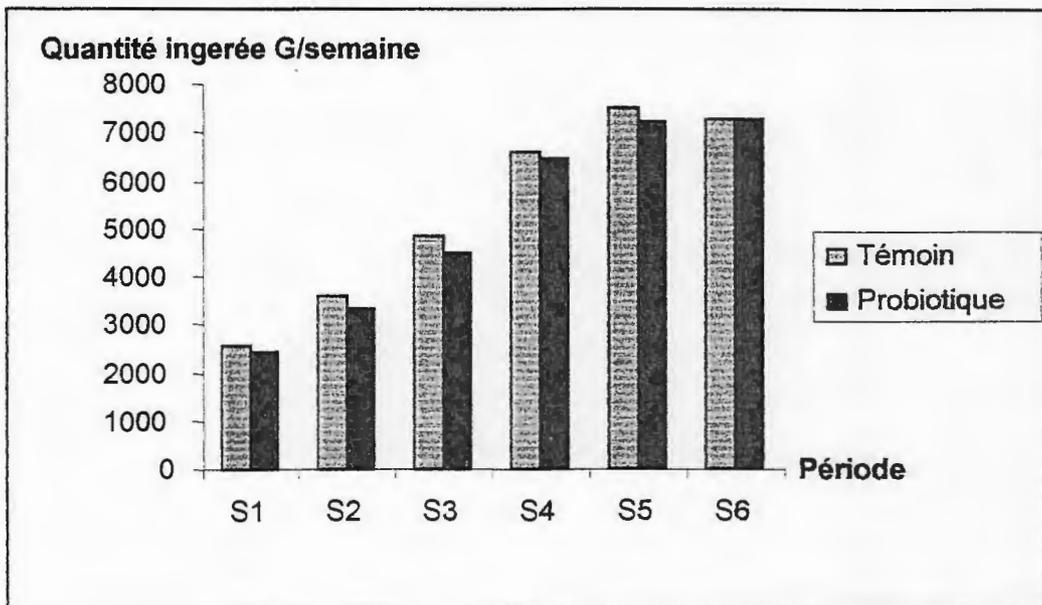


Figure 17: Evolution des quantités d'aliment ingérées (g)

G/semaine : gramme par semaine.

### III-8-2- L'eau abreuvée:

Les volumes moyens d'eau consommés par semaine, illustrés par le tableau 14 sont marqués par des valeurs croissantes durant la période d'élevage "figure 18", due à l'âge des poussins, et l'augmentation de consommation de l'aliment, en plus de l'élévation de la température au cours des deux dernière semaines.

Pendant la 6<sup>ème</sup> semaine on obtient des résultats presque comparables à ceux de la 5<sup>ème</sup> semaine due à un manque de l'aliment qui à pousser le poulet à s'abreuver.

L'analyse de variance a révélé que l'effet probiotique affecte nettement l'évolution des volumes de l'eau abreuvés avec un effet hautement significatif ( $P < 0.01$ ), le même effet a été noté à l'égard de la durée de l'élevage. Par ailleurs, la comparaison des moyennes a montré l'existence de deux groupes de sujets hétérogène vis-à-vis de volume d'eau abreuvée.

Généralement, les poulets recevant *Lactobacillus plantarum* consomment moins d'eau que les témoins ce qui signifié l'existence d'un effet probable de probiotique *Lb plantarum* "BJ0021" sur la consommation de l'eau.

Tableau 14 : Evolution des quantités moyennes d'eau consommées (ml/J)

Régime semaines	Témoin (b)	Probiotique (a)	Signification statistique
S <sub>1</sub>	5289.33 ± 571.03	5106.00 ± 716.22	* à **
S <sub>2</sub>	7694.85 ± 1016.44	7495.00 ± 1138.46	
S <sub>3</sub>	11657.14 ± 2613.33	11278.57 ± 2227.34	
S <sub>4</sub>	14665.42 ± 1135.70	13113.28 ± 1570.78	
S <sub>5</sub>	16441.42 ± 1073.78	15801.14 ± 1474.24	
S <sub>6</sub>	16748.85 ± 1466.91	16546.57 ± 2181.15	
Signification statistique	* à **		

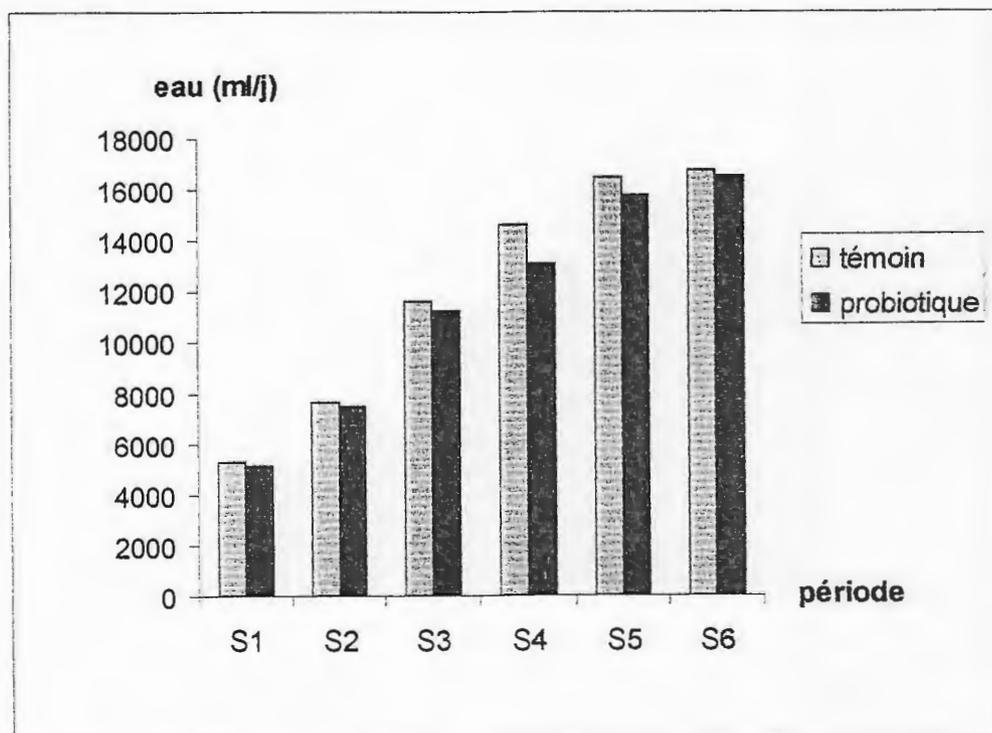


Figure 18 : Evolution des quantités moyenne d'eau consommées

### III-8-3- Indice de consommation (I. C) :

Tout en négligeant les résultats de la phase d'adaptation qui est de 12 jours caractérisée par un poids vif très bas dans les deux lots. L'indice de consommation des sujets à probiotique *Lb plantarum* "BJ0021" marque les valeurs les plus faibles que celles du témoin malgré qu'il y a des variations de ce dernier tout au long de la période de l'expérimentation pour les deux lots.

Ainsi la meilleure valorisation de l'aliment est enregistrée en S<sub>2</sub> pour le poulet à probiotique, et celui de témoin avec des indices de consommation de 1.20 et 1.21 respectivement.

Par ailleurs l'augmentation de l'IC durant la 4<sup>ème</sup> semaine pour les deux lots expérimentaux, est due à un stress alimentaire car le poulet a resté à jeun pendant 24 heures par manque de l'aliment et à l'élévation de température au sein de l'animalerie.

Au cours de la 6<sup>ème</sup> semaine, on remarque une élévation importante de l'IC avec une différence nette entre les deux lots, due principalement à une mauvaise valorisation de l'aliment et à la température élevée en cette période.

L'analyse statistique a montré que l'utilisation du probiotique *Lb plantarum* dans l'alimentation du poulet de chair avait un effet hautement significatif sur l'évolution de l'IC (P<0.01) de même, il apparaît également que l'âge du poussin donne le même effet (\*\*\*) à l'égard du paramètre I. C.

Les mêmes résultats ont été trouvés par LACZA-SZABO et al., (1990), utilisant *Streptococcus faecium* "M-74" avec 2 à 3% de IC au profit des sujets à probiotique.

D'une manière générale on constate une amélioration de l'IC dans le lot qui ingère le probiotique *Lb plantarum* "BJ0021" donc on peut considérer le probiotique *Lb plantarum* "BJ0021" comme un économiseur d'aliment.

Tableau 15: Evolution de l'indice de consommation.

Régime période	Témoin	Probiotique	Signification statistique
S <sub>1</sub>	1.57	1.44	* à **
S <sub>2</sub>	1.21	1.20	
S <sub>3</sub>	2.1	1.94	
S <sub>4</sub>	4.7	4.16	
S <sub>5</sub>	2.98	2.92	
S <sub>6</sub>	6.56	5.44	
Signification statistique	* à **		

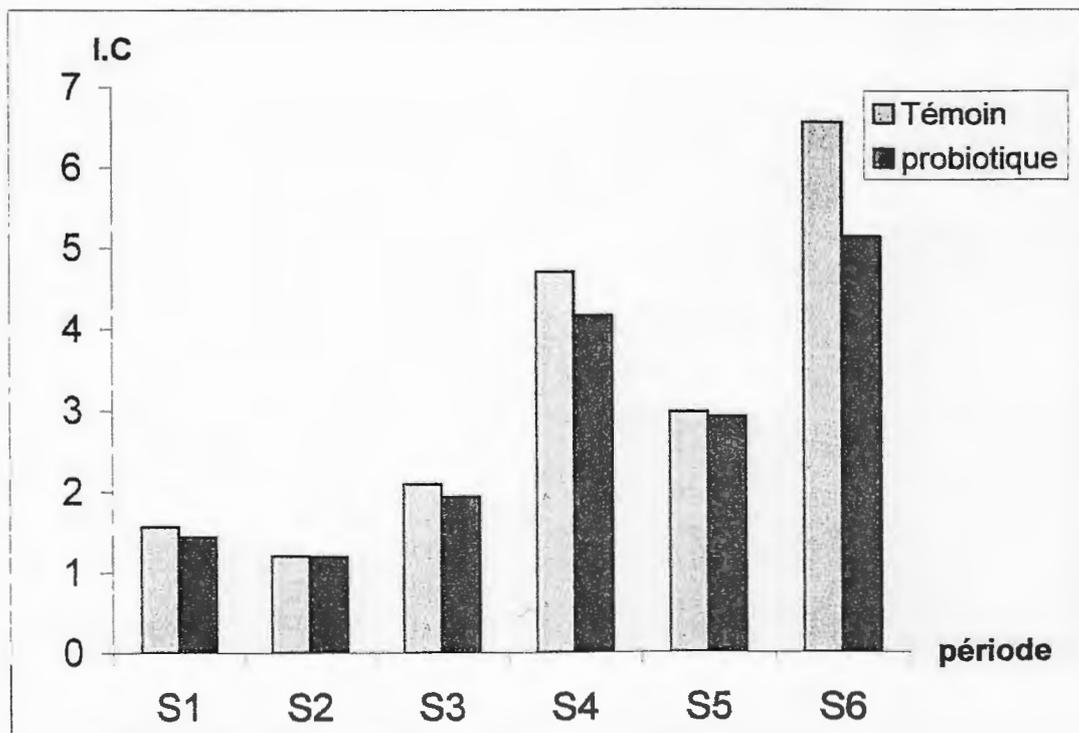


Figure 19 : Evolution de l'indice de consommation

### III-8-4- Le poids vif :

D'après les résultats enregistrés sur le tableau 16, et illustrés par la figure 20, on remarque une augmentation des valeurs du poids vif avec l'âge des poulets dans les deux lots.

Les poulets recevant le probiotique *Lb plantarum* "BJ0021" ont un poids vif plus élevé que ceux du témoin et la différence entre eux est en augmentation graduelle avec l'âge, qui rapporte que l'addition d'un probiotique à base de *Lactobacillus*, à la ration alimentaire de poussins durant huit semaines améliore la croissance des animaux et l'IC [25].



**Figure19** : poussins à probiotique et témoin (4<sup>ème</sup> semaine, 6<sup>ème</sup> semaine).

Durant la 6<sup>ème</sup> semaine on a observé une diarrhée seulement chez les sujets de lot témoin, ce qui a influencé négativement sur leurs poids vif, par contre chez les poulets à *Lb plantarum* aucun symptôme n'a été noté, donc on peut considérer le probiotique comme un facteur antidiarhéique par l'inhibition de croissance des bactéries pathogènes (*Salmonella*, *E col...*).

D'une manière générale, on peut constater que le probiotique *Lb plantarum* améliore la digestibilité de l'aliment, ce qui assure un meilleur rendement de poids vif, dont Les différences entre les poids des animaux en témoigne, tout fois DEROCHAMBEAU (1992), signale que l'évolution de poids vif est en fonction du format de la souche, des conditions de l'élevage et de type de probiotique. Cela dit nos résultats ont montré l'efficacité de notre probiotique malgré les mauvaises conditions de l'élevage du poulet.

L'analyse de variance montre que seul l'âge du poulet agit sur l'évolution du poids vif ( $P < 0.01$ ), avec une différence hautement significative entre les deux lots.

La plus larges zones d'inhibition et de 3 cm, elle est obtenue lorsque la souches d'*Enterobacter* ensemencée sur le milieu solide (GN) est mise au contacte avec *L.b plantarum* imbibé sur le disque (voire figure 13).



**Figure 13 :** Interaction entre *Lb plantarum* « BJ0021 » et la souche d'*Enterobacter*.

De même, les diamètres de zones d'inhibition étaient de 1.6cm avec *E coli*, 1.3cm avec *Proteus* et 1.2cm avec *Klebsiella*. Un diamètre minimum de 0.7cm avec la souche *Salmonella* B41 et de 1cm pour *Staphylococcus*43300 tout fois dans le croisement inverse, (le probiotique est ensemencée par inondation de la Gélose MRS), la majorité des diamètres de zones d'inhibition à diminue avec des différences significative ( $P < 0.05$ ) cela est probablement lié à des effets du probiotique suite à l'occupation du biotope.

Il apparaît clairement que le probiotique "*L.b plantarum*" Bj 0021" est actif sur des efférents souches, l'inhibition peut s'explique par le production de divers métabolites telle que:

- Les bactériocines, et les antibiotiques: la production de bactériocines par les bactéries lactique est une cause d'inhibition les bactériocines se définissent par une activité antibactérienne au spédre d'action étroite [3].

Tableau 16: Evolution du poids vif moyen des poulets (en g).

Régime période	Témoin	Probiotique	Signification statistique
S <sub>1</sub>	267.56 ± 72.17	270.13 ± 65.24	* à**
S <sub>2</sub>	830.54 ± 106.97	823.75 ± 108.75	
S <sub>3</sub>	1255.40 ± 154.91	1291.89 ± 115.7	
S <sub>4</sub>	1533.78 ± 179.13	1585.13 ± 135.84	
S <sub>5</sub>	1998.10 ± 229.47	2054.05 ± 207.29	
S <sub>6</sub>	2213.56 ± 465.75	2264.86 ± 284.76	
Signification statistique	N S		

N S : non significatif.

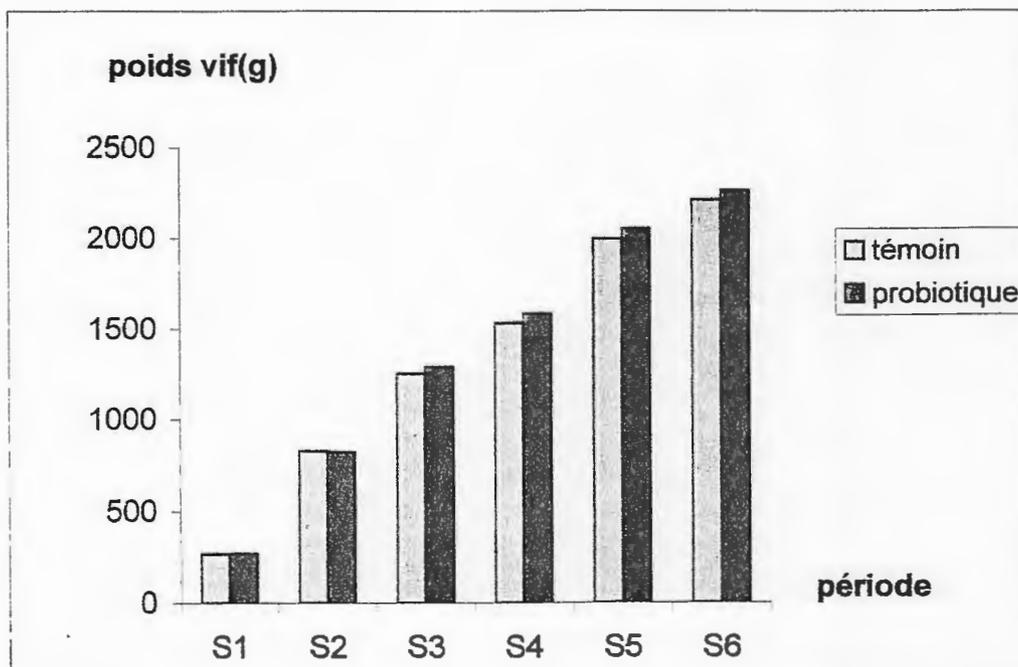


Figure 20 : Evolution du poids vif moyen des poulets (g)

III-8-5- Le gain moyen quotidien (G.M.Q) :

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 17 et illustrés par la figure 19.

D'après les résultats qu'on a obtenus, le G.M.Q présente des variations tout au long de l'expérimentation. En effet le maximum du gain de poids a été enregistré durant la 2<sup>ème</sup> semaine et qui est de l'ordre de 79.45 g/j pour le lôt témoin et de 80.08 g/j pour le lôt supplémenté. Ces résultats sont probablement liés au passage des poussins d'une phase d'adaptation à une phase de croissance.

Le plus faible gain de poids est remarqué pendant la 6<sup>ème</sup> semaine qui est de 30.11g/j pour le lôt témoin, et 30.78g/j pour le lôt supplémenté, cela est probablement lié à un manque en facteur de croissances dans l'aliment.

Pour la 5<sup>ème</sup> semaine une augmentation sensible de G.M.Q des deux lôts avec des résultats identique due probablement à la quantité de l'aliment ingéré en fonction de l'age.

Pour la 6<sup>ème</sup> semaine on a remarque un déclin brutal de la vitesse de croissance à cause de la température élevé, au manque de l'aliment et à la surface de l'élevage réduite.

En général le probiotique *Lb plantarum* "BJ0021", a une influence positif sur la croissance des poulets surtout pendant la phase de croissance mais avec une différence non significative ( $P > 0.05$ ).

Le maintien de la flore intestinale va permettre une meilleure digestion ainsi qu'une limitation des diarrhées, permettant d'utiliser mieux l'aliment proposé et d'avoir une bonne croissance [11].

Tableau 17: Evolution du gain moyen quotidien (en g) :

Régime période	Témoin	Probiotique	Signification statistique
S <sub>1</sub>	38.22 ± 10.31	38.60 ± 9.32	N S
S <sub>2</sub>	79.45 ± 5.22	80.08 ± 6.21	
S <sub>3</sub>	61.69 ± 6.60	65.87 ± 1.25	
S <sub>4</sub>	39.77 ± 3.46	41.90 ± 2.86	
S <sub>5</sub>	66.33 ± 7.19	66.98 ± 10.21	
S <sub>6</sub>	30.78 ± 33.75	30.11 ± 11.06	
Signification statistique	N S		

N S : non significatif.

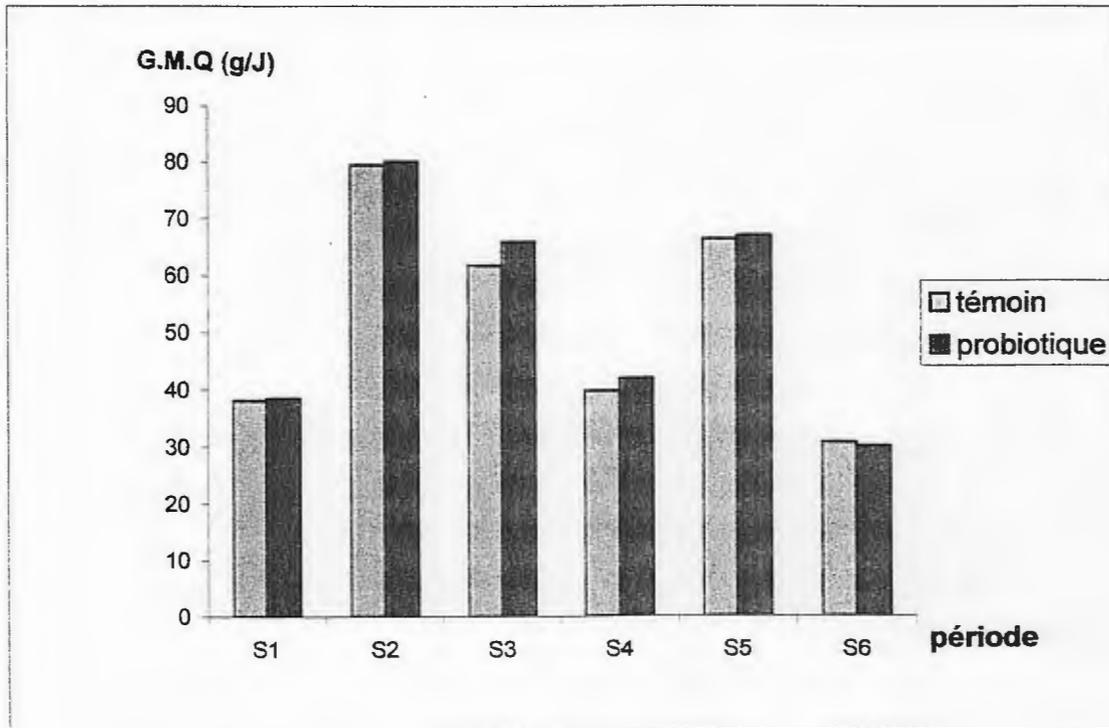


Figure 21 : Evolution du Gain moyen quotidien

**III-8-6- La mortalité à l'engraissement:**

Il n'y a pas de mortalité tout au long de l'expérimentation, sauf en phase d'adaptation où on enregistre la perte de 15 sujets à cause de l'inadaptation au climat, plus l'apparition de diarrhée (Amphaloplité) et la mauvaise qualité des poussins morts.

La limitation de la mortalité est probablement due à l'action bénéfique de *Lb plantarum* "BJ0021", sur la résistance et le maintien de l'équilibre de la flore fécale jouant le rôle biorégulateur par la prévention des troubles digestifs.

**III-8-7- les paramètres de carcasse:**

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 18. Pour l'évaluation de ces paramètres, les sujets à abattre ont été choisis au hasard, ainsi les résultats obtenus permettent de faire la lecture suivante:

Le poids de carcasses chaudes des poulets à probiotique dépasse celui des sujets témoins de +264.57g malgré que les poids des plumes des pieds et des têtes des sujets à probiotique enregistrent les écarts les plus élevés, cela est probablement due à une proteogénese plus active suite à une bonne valorisation de l'aliment sous l'effet de probiotique.

Des différences ont été obtenues à l'égard du poids des carcasses chaudes après éviscération et le poids de carcasses commerciale avec +307.14g et +328.57g respectivement au profit des carcasses à probiotique.

Le poids moyen du cinquième quartier était identique, avec des différences entre le poids du poids de gésier.

Enfin il apparaît, que les sujets à probiotique donnent le meilleur rendement. Ce qui va conduire à une bonne répercussion sur le coût de production des viandes blanches.

**Tableau 18** : Les composants du rendement à l'abattage :

<b>Régime</b>	<b>Témoin</b>	<b>probiotique</b>
<b>Caractère d'abattage</b>		
<b>Poids vif (g)</b>	2057.14	2442.28
<b>Poids moyen des carcasses chaudes après éplumage (g)</b>	1714	1978.57
<b>Poids moyen des plumes (g)</b>	107.14	121.43
<b>Poids moyen des pieds et têtes (g)</b>	171.43	221.43
<b>Poids moyen du foie (g)</b>	47.93	45.92
<b>Poids moyen du 5<sup>eme</sup> quartier (g)</b>	121.43	121.43
<b>Poids moyen du cœur (g)</b>	12.44	12.1
<b>Poids moyen du gésier (g)</b>	49.23	53.24
<b>Poids moyen des graisses entourant le cloaque (g)</b>	35.02	33.74
<b>Poids moyen des carcasses après éviscération (g)</b>	1428.57	1735.71
<b>Poids moyen des carcasses commerciales après ressuage (g)</b>	1378.57	1707.14
<b>Rendement de la carcasse (%)</b>	67.5%	56.6%

### **III.9. L'analyse microbiologique après abattage:**

Les résultats de la recherche des *Lactobacillus* dans le tube digestif des sujets du lot supplémenté de probiotique sont enregistrés dans le tableau 19. Ces résultats montrent le suivant:

- Apparition de colonies de bactérie lactique sur milieu M<sub>17</sub> pour les deux organes gésier et l'intestin.
- L'absence de colonies sur le milieu MRS pour la culture ensemencé à partir de gésier.
- Tandis que la culture de l'intestin donne 38 colonies sur le milieu MRS (dilution 10<sup>-20</sup>).
- Présence d'un tapis bactérien sur le milieu M<sub>17</sub>

Par ailleurs les résultats de l'examen microscopique montre la présence des *Lactobacillus* à GRAM<sup>+</sup> dans l'intestin et la gésier de même la forme cocci à GRAM<sup>+</sup> à été retrouvée sur le milieu gélosé ensemencé à partir d'un inoculum de l'intestin.

Donc ces formes cocci peuvent être des *Lactococcus* ou *Streptococcus* car les bactéries lactiques peuvent être isolés à partir des cavités du tube digestif du poussin [14].

**Tableau 19** : Résultat de l'analyse microbiologique et microscopique.

	Echantillons	Lot 2 (à probiotique)	Coloration de GRAM	Catalase
MRS	Gésier	(-)	/	/
	Intestin	38 x 10 <sup>+20</sup>	Cocci GRAM <sup>+</sup>	-
M <sub>17</sub>	Gésier	Tapis	Bâtonnet GRAM <sup>+</sup>	-
	Intestin	Tapis	Cocci } GRAM <sup>+</sup> Bâtonnet }	-

(-) : Absence.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]-**BOURLIEUX P., 1994** : Ecologie microbienne du tube digestif et santé.  
Cah.Nutr.Diététique.,P.333-334.
- [2]- **BOURGOIS. C.M et LARPENT. J.P, 1996** : Microbiologie alimentaire, aliments fermentés et fermentation alimentaire. Tome 02. Tec. et Doc, Lavoisier.
- [3]-**DESMAZEAUD M., 1992** : Les bactéries lactiques I.N.R.A.
- [4]-**FLORENT J.M., ROBERTON.N, 1997** :L'action bénéfique des probiotiques chez poulet. Tec et Doc , Lavoisier.
- [5]-**GOURNIER C et CHATEAU .N 1994**: Les probiotiques en alimentation animale et humaine. Tec et Doc , Lavoisier.
- [6]-**GUIRAUDE.J.JOSEPH, 1998** : Microbiologie alimentaire collection science et technique agroalimentaire, Paris. P 90-92.
- [7]-**IDOUI T., 1994** : « purification, caractérisation et identification des souches des bactéries lactiques isolée du beurre traditionnel local (Jijel / Etude de quelques aptitudes technologiques, inhibition interbactériennes, reconstitution de levain lactiques mesophyles. Memoire de fin d'études en agro-alimentaire . Université de Mostaganem
- [8]- **LENOIR J, HERMIER J et WEBER F. , 1992** : Les groupes microbiens d'intérêt laitier. CIPIL
- [9]-**JOSEPH. PIERRE GUIRAUD., 1998** : Microbiologie alimentaire.  
1<sup>ere</sup> édition. DUNOD , Paris.
- [10]-**JOFFIN C et JOFFIN J-N , 1999** : « Microbiologie alimentaire ». 5<sup>eme</sup> édition.  
C R D P d'Aquitaine , Bordeaux
- [11]-**KOZASA S., 1986** : Les probiotiques pour demain.  
Revue de l'alimentation animale N°397.
- [12]-**LACZA-SZABO S , GIPPERT T,HULLAR I et VIRAG G ., 1990**. Utilisation de *Streptococcus faecium* M74 dans l'alimentation de lapin. Revue cuniculture N96
- [13]-**LARPENT J.L.,1994** . Les probiotiques en alimentation animale et humaine.  
Tec et Doc , Lavoisier.
- [14]-**LEVEAU J.Y., BOUIX M et DEROISSART H., 1991** . Techniques d'analyse et de contrôle dans les I.A.A . Tec et Doc , Lavoisier.

- [15]-LECLERC C et MOSSEL. 1990. Influence de levures sur les performances de lapin. Revue de cuniculture N104.
- [16]-MARTEAU PH., RAMBAU DJ.C., 1993 . Potential of using lactic acid bacteria for the sopy and imunomodulation in man. F.E.M.S .microbial.Rev, 14.
- [17]-MARCEL D., 1993. Lactic acid bacteria. SEPPO SALMINEN.
- [18]-MOLDER R. , 1990. Introduction à la microbiologie dans les pays chauds. Lavoisier.
- [19]-OXFORD D., 1944. Lavoisier.
- [20]-PERDIGON G. ALAVARE Z., 1992 . Probiotic and the immunes ate, in Probiotic, the scientific bases . CHAPMAN and HALL.
- [21]-PILET F., MAGRAS S et FEDERIGUI M., 1998. “Bactéries lactiques” dans « manuel de bactériologie alimentaire ». Lavoisier.
- [22]-PETRANSXIENE P et LAPIED D., 1981 : La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers, analyse et test, 2<sup>eme</sup> édition. Tec et Doc , Lavoisier.
- [23]-PSURDEAU PH et HENAFI R., 1979 . La production du poulet. Edition J.B.BAILLIERE.
- [24]-SEROT T, 1990. Isolated and partial purification of antibacterial substance produced by *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* isolated from kefir.
- [25]-SZYLIT T , 1980. Lactic acid bacteria, their metabolic products . Microbiol .Rev., 12.

# Annexe 1

## Réactifs

### 1) Violet de gentiane.

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

### 2) Fushine de ziel.

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

### 3) Lugol.

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

### 4) KOVACS.

- Alcool amylique ou isoamylique 150ml
- P. étiméthylaminobenzaldéhyde 10g
- Acide chlorhydrique concentré 50ml
- Avec l'ajout de l'acide en dernier et lentement. Conserver à +4°C.

# Annexe 2

## Les milieux de culture.

### 1) Gélose nutritive ordinaire.

- Peptone 10g
- Extrait de viande 5g
- Chlorure de sodium 5g
- Gélose 15g

pH= 7,2. Autoclaver 20mn à 120°C

### 2) Gélose HEKTOEN.

- Protéose-peptone 12g.
- Extrait de levure 3g.
- Chlorure de sodium 5g.
- Thiosulfate de sodium 5g.
- Sels biliaires 9g.
- Citrate de fer ammoniacal 1,5g.
- Salicine 2g.
- Lactose 12g.
- Saccharose 12g.
- Fushine acide 0,1g.
- Bleu de bromothymol 65mg.
- Gélose 13mg.

### 3) Désoxycholate 1%.

- Peptone 10g.
- Lactose 10g.
- Désoxycholate de sodium 0,5/1g.
- Chlorure de sodium 5g.
- Rouge neutre 30mg.
- Gélose 12g.

pH= 7,1. Stériliser par 5minutes d'ébullition.

# Annexe 3

## 1) VRBG (gélose biliée au cristal violet et au rouge neutre).

➤ Peptone	7g
➤ Extrait de levure	5g.
➤ Sels biliaries	1,5g.
➤ Glucose	10g.
➤ Chlorure de sodium	5g.
➤ Rouge neutre	30mg.
➤ Cristal violet	2mg.
➤ Gélose	12g.

## 2) Viande de foie V.F.

➤ Extrait viande de foie	30g.
➤ Glucose	2g.
➤ Amidon	2g.

## 3) Chapman.

➤ Extrait de viande	1g.
➤ Chlorure de sodium	5g.
➤ Peptone	10ml.
➤ Mannitol	10g.
➤ Rouge de phénol	25g.
➤ Gélose	15g.

pH= 7,4. Autoclaver 15mn à 120°C.

# Annexe 4

## 1) Mannitol mobilité.

➤ Peptone	20g.
➤ Nitrate de potassium	1g.
➤ Mannitol	2g.
➤ Rouge de phénol	40mg.
➤ Gélose	4g.

## 2) TSI.

➤ Peptone	20g
➤ Extrait de viande	3g.
➤ Extrait de levure	3g.
➤ Chlorure de sodium	5g.
➤ Glucose	1g.
➤ Lactose	10g.
➤ Saccharose	0,5g.
➤ Hyposulfite de sodium	0,5g.
➤ Rouge de phénol	25mg.
➤ Gélose	12g.

## 3) Citrate de simmons.

### Formule en gramme par litre d'eau distillée.

➤ Sulfite de magnésium	0,2g.
➤ Citrate de sodium	2g.
➤ Chlorure de sodium	5ml.
➤ Phosphate d'ammonium	0,2g.
➤ Bleu de bromothymol	0,08g.
➤ Agar	15g.

# Annexe 5

## 1) Bouillon lactosé.

- Peptone trypsique de gélatine 5g.
- Extrait de viande 3g.
- Lactose 5g.

pH 6,9. Repartir en tube a essais (5-10 ml). L'ajout éventuellement d'une cloche Durham.

Autoclaver 15mn à 120°C.

## 2) Clarks et Lubs.

- Peptone 10g.
- Phosphate potassium 2g.
- Glucose 5g.
- pH 7. Autoclaver 20mn à 120°C.

## 3) Eau peptonée tamponnée.

- Peptone 20g.
- Chlorure de sodium 5g.
- Phosphatédisodique 9g.
- Phosphate monopotassique 1,5g.

pH 7,2. Autoclaver 30mn à 115°C.

# Annexe 6

## 1) ODC.

➤ Ornithine	5g.
➤ Extrait de levure	3g.
➤ Chlorure de sodium	5g.
➤ Glucose	1g.
➤ Pourpre de bromocrésol	16mg.

## 2) ADH. (milieu pour mise en évidence de l'arginine dihydrolyse).

➤ L'arginine	5g.
➤ Extrait de levure	3g.
➤ Chlorure de sodium	5g.
➤ Glucose	1g.
➤ Pourpre de bromocrésol	16mg.

## 3) LDC.

➤ Lysine	5g.
➤ Extrait de levure	3g.
➤ Chlorure de sodium	5g.
➤ Glucose	1g.
➤ Pourpre de bromocrésol	16mg.

# Annexe 7

## ✚ Milieu MRS.

Liquide ou gélose a été proposé initialement pour la culture des Lactobacilles.

Il convient également pour les leuconostoc et les pediocoques.

La composition est la suivante:

➤ Peptone	10g.
➤ Extrait de viande	8g.
➤ Extrait de levure	4g.
➤ Acétate de sodium	5g.
➤ Phosphate bipotassique	2g.
➤ Citrate d'ammonium	2g.
➤ Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O	0,2g.
➤ Sulfate de manganèse, 4H <sub>2</sub> O	0,05g.
➤ Glucose	20g.
➤ Tween 80	1ml.
➤ Eau distillée qsp	100ml.
➤ pH	6,2.

Stérilisation 15mn à 120°C.

## ✚ Milieu M<sub>17</sub>. Milieu de base.

➤ Peptone tryptique de caséine	2,5g.
➤ Peptone pépsique de viande	2,5g.
➤ Peptone papainique de soja	5g.
➤ Extrait de viande	5g.
➤ Extrait de levure déshydrate	2,5g.
➤ Glycérophosphate de sodium	19g.
➤ Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O	0,25g.
➤ Acide ascarbique	0,5g.
➤ Agar	8 à 18 g.
➤ Eau	950ml.

Dissoudre les ingrédients dans l'eau à ébullition. Laisser refroidir à 50°C. Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,1 à 7,2. Stériliser 20mn à 120°C.

**ANNEXE 8 :**  
**Dispositif Mono-Factorial en bloc**

$$tCG = \frac{\left[ \sum_{t,b} x \right]^2}{tb}$$

$$SCE_T = \sum_{t,b} x^2 - tCG$$

$$SCE_{fE} = \frac{\sum_1^t \left( \sum_1^y x_1 \right)^2}{b} - tCG$$

$$SCE_{fC} = \frac{\sum_1^b \left( \sum_1^t x_p \right)^2}{t} - tCG$$

$$SCE_r = SCE_T - (SCE_{fE} + SCE_{fC})$$

**Analyse de la variance**

$\sum CE$	SCE	ddl	CM	$F_{abs}$
f.E		$t - 1$	$\frac{SCE_{fE}}{T - 1}$	$\frac{CM_{fE}}{CM_r}$
f.C		$b - 1$	$\frac{SCE_{fC}}{b - 1}$	$\frac{CM_{fC}}{CM_r} = b$
r		$(t-1)(b-1)$	$\frac{SCE_r}{(t-1)(b-1)}$	

t : nombre de traits.

b : nombre de blocs.

tCG : taux globale.

SCE : la somme des carrés des écarts.

f.E : facteurs étudiés.

f.C : facteurs contrôlés.

r : écarts résiduelle.

$SCE_r$  : la somme des carrés des écarts résiduelle.