

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة ابن خلدون تيارت

UNIVERSITE IBN KHALDOUN-TIARET



THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES

SPECIALITE : SCIENCES VÉTÉRINAIRES

THEME

**Evaluation de l'effet prébiotique des extraits bioactifs de
Citrus sur la flore digestive des volailles**

PRESENTEE ET SOUTENUE PAR

Mme BOUMEZRAG ASSIA

LE 22 JUIN 2109

JURY :

Président	Pr HAMMOUDI Abdelhamid	Université de Tiaret
Examineur	Pr GUETARNI Djamel	Université de Blida
Examineur	Pr AIN BAZIZ Hacina	ENSV Alger
Examineur	Dr ZIANE Mohamed, MCA	CU Aïn Témouchent
Rapporteur	Dr KHIATI Baghdad, MCA	Université de Tiaret
Co-Rapporteur	Dr BENARABA Rachida, MCA	Université de Tiaret

Année universitaire : 2018-2019

REMERCIEMENTS

Mes remerciements s'adressent tout d'abord à **ALLAH, le tout Puissant et Miséricordieux** d'avoir permis à ce travail d'aboutir à son terme.

C'est avec un réel plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail. Mes remerciements s'adressent :

A Mon Directeur de Thèse

Monsieur KHIATI Baghdad

Maître de Conférences à l'Université Ibn Khaldoun –Tiaret

Pour avoir dirigé ce travail de recherche. Je lui suis extrêmement reconnaissante pour m'avoir permis de faire l'essai expérimental dans sa ferme et avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires.

Je tiens à le remercier aussi pour ses encouragements et son soutien moral.

Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude et ma sincère reconnaissance.

A ma Co-directrice de Thèse

Madame BENARABA Rachida

Maître de Conférences à l'Université Ibn Khaldoun –Tiaret

Pour avoir accepté de diriger cette thèse ainsi que pour ses discussions et ses conseils judicieux. Je lui suis extrêmement reconnaissante pour son entière disponibilité et la confiance qu'elle m'a témoignée dès le premier jour.

Qu'elle trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma profonde considération

Au Président de jury

Monsieur HAMMOUDI Abdelhamid

Professeur à l'Université Ibn Khaldoun –Tiaret

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse

Qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance et ma parfaite considération

A notre jury de Thèse

Monsieur GUETARNI Djamel

Professeur à l'Université Saad Dahleb-Blida

C'est avec plaisir que vous avez accepté de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Veuillez accepter, honorable professeur, mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance.

Madame AIN BAZIZ Hacina

Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire-Alger

Qui nous a fait l'honneur de faire partie de notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

Monsieur ZIANE Mohamed

Maître de Conférences au Centre Universitaire de Ain Témouchent

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

Monsieur HAMMOUDI Si Mohamed

Vous m'avez accordé un privilège particulier et exceptionnel en mettant à ma disposition tous les moyens nécessaires et en m'offrant les meilleures conditions à la réalisation de ce travail. Vos encouragements, vos conseils d'hommes avisés, vos qualités humaines et scientifiques ainsi que votre passion pour un travail bien fait suscitent en moi tout le respect que je vous porte.

Veuillez accepter, honorable Docteur, mes sincères remerciements et ma profonde et infinie reconnaissance.

Au Directeur de la Société Nor-Feed Sud (Baucozé, France)

Monsieur CHICOTEAU Pierre

Pour ses conseils judicieux, son implication dans ce travail et pour avoir permis son financement.

Qu'il trouve ici l'expression de de ma sincère reconnaissance et de ma profonde considération.

A Monsieur BENARBIA Mohammed Amine

Pour son entière implication dans ce travail malgré la distance. Je lui suis extrêmement reconnaissante pour son aide pour l'établissement du protocole expérimental et les analyses statistiques ainsi que pour ses conseils judicieux, ses encouragements et le temps conséquent qu'il nous a accordé.

Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma profonde considération.

A Monsieur SEKHOU Cissé

Pour son implication dans ce travail. Je lui suis extrêmement reconnaissante pour son aide dans les analyses statistiques ainsi que pour ses encouragements et le temps conséquent qu'il m'a accordé.

Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Au Directeur de l'ISV de Tiaret

Monsieur BENALOU Bouabdellah

Professeur à l'Université Ibn Khaldoun –Tiaret

Pour avoir mis à ma disposition tous les moyens techniques et matériels des laboratoires de microbiologie et de biochimie de l'institut vétérinaire de Tiaret.

Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma parfaite considération.

A Monsieur MANSOUR Abderahim

Docteur vétérinaire à la ferme expérimentale

Pour son aide précieuse dans l'expérimentation et pour le suivi de l'élevage.

A Monsieur TALEB MHAMED Ramdane

Je tiens à le remercier vivement tous pour son aide précieuse dans l'élevage des animaux.

A Mademoiselle AIT NAAMANE Karima,

Pour sa collaboration technique, ses encouragements et son soutien moral dans les moments difficiles de cette période.

A Madame SMAIL Fadhéla

Je tiens à la remercier vivement pour son aide dans la réalisation des analyses biochimiques, son soutien moral et son insistance pour terminer ce travail.

A Monsieur HEMIDA Houari

Je le remercie vivement pour ses encouragements et son soutien moral.

A Madame BENGUIAR Rachida

Je tiens à la remercier vivement pour sa collaboration, ses encouragements et son insistance pour terminer ce travail. Je lui souhaite une bonne continuation pour son travail.

A Madame MAHOUZ Fatima

Pour sa collaboration et ses encouragements

A Madame ABDELLAH Fatiha

Pour sa collaboration et ses encouragements

A Madame CHAOUCH Roba

Pour sa collaboration et ses encouragements.

A Monsieur BERRANI Abelkader

Pour sa collaboration et ses encouragements.

A Monsieur SELLES Sidi Mohammed Ammar

Pour sa collaboration et ses conseils judicieux.

Mes remerciements s'adressent aussi aux Dr. CHIKHAOUI Mira et Dr .FERNANE Habiba, à Madame KHLIL CHAHRA, madame BOUDJEMAA DJEFFAL Aouda, Mademoiselle BOUDALI Soumia, Mademoiselle ADDA Fouzia et Mademoiselle BOUCHNAFA KHADIDJA pour leurs encouragements.

Je tiens à remercier très chaleureusement ma chère amie, **KHALAKHI Yakout** qui m'a beaucoup soutenue et qui a bien voulu être à mes cotés quand j'en avais besoin de son aide.

Merci beaucoup Yakouta

A mes parents

Je tiens à vous remercier pour tous vos sacrifices depuis mon enfance à ce jour. Sans vous, je n'en serai pas là. Cette thèse est le fruit de vos peines et sacrifices.

Le chemin est dur sans toi papa mais tu es toujours dans mon cœur, repose toi en paix.

Puisse Allah te protéger et te procurer santé et bonheur chère Maman.

A mon frère Yassine, mon beau-frère Ahmed et mes sœurs Amina et Hamida,

Je tiens à les remercier vivement pour leur aide dans la préparation de cette thèse.

Je remercie vivement tous les ouvriers de la société SOFABEL qui m'ont aidé dans la préparation des régimes alimentaires et toutes les personnes qui m'ont aidé dans l'abattage des animaux.

DEDICACES

A mon très cher et regretté Papa

Tu as su m'apprendre les valeurs nobles de la vie

*Tu as été un exemple à suivre pour tes qualités humaines, ta dignité et ton
honnêteté.*

*Les mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect, ma
reconnaissance et mon amour éternel.*

*Tu nous a quitté à jamais et très tôt mais tu es toujours présent dans mon
cœur cher papa*

Qu'Allah le Tout Puissant et Miséricordieux t'accueille en son vaste Paradis

A ma très chère Maman

Tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'encourager

Ton amour et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Tes prières ont été pour moi un grand soutien tout au long de ma vie.

*Aucun mot ne saurait exprimer la profondeur de ma reconnaissance et mon
amour éternel.*

*Puisse Dieu tout puissant te préserver et t'accorder longue vie, santé
et bonheur*

A mes chères sœurs Amina et Hamida

A mes frères

A mon neveu Younes et mes nièces Maroua, Aya et Noudjoud

A tous ceux

qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée

SOMMAIRE



SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations.....	i
Liste des tableaux.....	iv
Liste des figures.....	v
Liste des photos.....	vi
Liste des annexes.....	vii
Introduction.....	1

CHAPITRE I: ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DIGESTIVES DES VOLAILLES

I.1. Anatomie de l'appareil digestif.....	4
I.1.1. Région crâniale (du bec au jabot).....	4
I.1.1.1. Le bec.....	4
I.1.1.2. La cavité buccale.....	5
I.1.1.3. La langue.....	5
I.1.1.4. Les glandes salivaires.	5
I.1.1.5. Le pharynx.....	5
I.1.1.6. L'œsophage.....	6
I.1.1.7. Le jabot.....	6
I.1.2. Région stomacale du tube digestif.....	6
I.1.2.1. Le proventricule.....	6
I.1.2.2. Le gésier.....	6
I.1.3. Région postérieure du tube digestif.....	7
I.1.3.1. Le duodénum.....	7
I.1.3.2. Le jéjunum.....	7
I.1.3.3. L'iléon.....	7
I.1.3.4. Le rectum.....	8
I.1.3.5. Les cæca.....	8
I.1.3.6. Le cloaque.....	8
I.2. Physiologie de la digestion chez les volailles.....	9
I.2.1. Mécanismes de la digestion et de l'absorption.....	9

I.2.1.1. Glucides.....	11
I.2.1.2. Protéines.....	12
I.2.1.3.Lipides.....	15
I.2.1.4. Eau.....	16

CHAPITRE II: LA MICROFLORE DIGESTIVE DES VOLAILLES

II.1. Définition.....	17
II.2. Cinétique de développement de la flore digestive.....	18
II.3. Facteurs de variation de la flore digestive.....	21
II.3.1. Facteurs génétiques.....	23
II.3.2. Souche et sexe.....	23
II.3.3. Environnement.....	23
II.3.4. Composition et structure des aliments.....	23
II.4. Impact de la flore sur la physiologie digestive.....	24
II.4.1. Modifications anatomiques et physiologiques du tractus digestif.....	24
II.4.2. Production et hydrolyse du mucus.....	25
II.5. Impact de la flore digestive sur la valeur nutritionnelle de l'aliment.....	26
II.5.1. Impact sur la digestion des aliments.....	26
II.5.1.1. Digestion des glucides.....	26
II.5.1.2. Digestion des lipides.....	26
II.5.1.3. Digestion des protéines.....	26
II.5.2. Impact sur le métabolisme.....	26
II.5.2.1. Métabolisme azoté.....	27
II.5.2.2. Métabolisme énergétique.....	27
II.5.2.3. Métabolisme minéral et vitaminique.....	27
II.5.2.4. Métabolisme des composés phénoliques.....	27
II.6. Impact de la microflore sur la santé de l'hôte.....	28
II.6.1. Protection contre les micro-organismes néfastes.....	28
II.6.2. Stimulation du système immunitaire.....	28
II.7. Contrôle de la microflore.....	29

CHAPITRE III: LES ADDITIFS EN ALIMENTATION ANIMALE

III.1. Définition.....	32
III.2. Classification.....	32
III.2.1. Additifs nutritionnels.....	32
III.2.2. Additifs technologiques.....	32
III.2.3. Additifs zootechniques.....	32
III.2.3.1. Additifs antibiotiques.....	33
III.2.3.1.1. Mode d'action.....	34
III.2.3.1.1.1. Diminution de la prévalence des infections endémiques sub-cliniques.....	35
III.2.3.1.1.2. Réduction de la production des métabolites toxiques.....	35
III.2.3.1.1.3. Augmentation de la disponibilité des nutriments pour l'hôte.....	36
III.2.3.1.1.4. Amélioration de l'absorption intestinale.....	36
III.2.3.1.1.5. Inhibition de la réponse inflammatoire.....	36
III.2.3.1.2. Conséquences de l'utilisation des antibiotiques facteurs de croissance.....	37
III.2.3.1.3. Règlementation et bannissement des AFC.....	38
III.2.3.1.4. Conséquences de l'interdiction de l'utilisation des AFCs.....	38
III.2.3.1.4.1. Conséquences sur la résistance bactérienne.....	38
III.2.3.1.4.2. Conséquences sur les performances et la santé des animaux.....	39
III.3. Alternatives aux antibiotiques.....	39
III.3.1. Acides organiques.....	40
III.3.2. Enzymes.....	40
III.3.2.1. Phytases.....	40
III.3.2.2. β -glucanases et xylanases et cellulases.....	41
III.3.3. Prébiotiques.....	41
III.3.4. Probiotiques.....	42
III.3.5. Symbiotiques.....	43
III.3.6. Phytobiotiques.....	43
III.3.6.1. Propriétés des phytobiotiques utilisés chez les volailles.....	44
III.3.6.1.1. Propriétés antioxydantes.....	44
III.3.6.1.2. Propriétés antibactériennes.....	45
III.3.6.1.3. Propriétés de stimulation de la digestion.....	46
III.3.6.2. Effet des phytobiotiques sur les animaux et leurs produits.....	47
III.3.6.2.1. Effet sur les performances de croissance.....	47

III.3.6.2.2. Effet sur la qualité de la viande.....	47
III.3.6.3. Facteurs influençant l'efficacité des phytobiotiques.....	48
III.3.6.3.1. Nature et mode de présentation des phytobiotiques.....	48
III.3.6.3.2. Age des animaux.....	49
III.3.6.3.3. Qualité de l'aliment.....	49
III.3.6.4. Mécanismes d'action <i>in vivo</i>	50
III.3.6.4.1. Action sur le microbiote digestif.....	51
III.3.6.4.2. Action sur le tractus digestif.....	52
III.3.6.5. Phytobiotiques utilisés au cours de ce travail de thèse.....	52

CHAPITRE IV: MATERIEL ET METHODES

IV. 1. Evaluation des effets des phytobiotiques <i>in vivo</i>	54
IV. 1. 1. Additifs alimentaires utilisés dans l'expérimentation.....	54
IV. 1.1.1. Préparation des poudres d'écorces d'orange et de citron.....	54
IV. 1.2. Préparation des rations expérimentales.....	54
IV. 1. 3. Cheptel expérimental.....	57
IV.1. 3. 1. Période et lieu de l'étude.....	57
IV.1. 3. 2. Conduite d'élevage.....	57
IV.1. 3. 2.1. Préparation du bâtiment et du matériel d'élevage.....	57
IV.1. 3. 2.2. Réception et mise en place des Poussins.....	58
IV.1. 3. 2.3. Luminosité et température.....	58
IV.1. 3. 2.4. Alimentation et abreuvement.....	59
IV.1.4. Mesure des paramètres zootechniques, biochimiques et bactériologiques.....	61
IV.1.4.1. Effet des additifs sur les paramètres zootechniques.....	61
IV.1.4.1.1. Consommation alimentaire.....	61
IV.1.4.1.2. Gain moyen quotidien.....	61
IV.1.4.1.3. Indice de Consommation.....	61
IV.1.4.1.4. Poids vifs moyen.....	61
IV.1.4.1.5. Rendement de Carcasse.....	62
IV.1.4.1.6. Poids des organes.....	62
IV.1.4.1.7. Détermination de la longueur intestinale.....	62
IV.1.4.2. Taux de Mortalité.....	62
IV.1.4.3. Effets des additifs alimentaires sur les paramètres sanguins biochimiques.....	62

IV.1.4.3.1. Dosage du cholestérol total.....	63
IV.1.4.3.2. Dosage des triglycérides.....	63
IV. 1.4.3.3. Dosage du glucose.....	64
IV.1. 4. 4. Effets des additifs alimentaires sur la flore digestive.....	64
IV. 1. 4. 4. 1. Préparation des solutions mères.....	65
IV. 1. 4.4. 2. Préparation des dilutions décimales.....	65
IV. 1. 4. 4. 3. Dénombrement bactérien.....	65
IV. 1. 4.4.4. Identification bactérienne.....	65
IV. 1.4.4.4.1. Principe des galeries API.....	66
IV. 2. Evaluation des effets des phytobiotiques <i>in vitro</i>	67
IV. 2. 1. Evaluation de l'effet prébiotique.....	67
IV.2. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de Citrus.....	68
IV.2. 2. 1. Extraction de composés phénoliques totaux.....	68
IV. 2. 2. 1. 1. Calcul du rendement d'extraction.....	68
IV. 2. 2. 2. Analyses quantitatives des extraits.....	69
IV. 2. 2. 2. 1. Dosage des composés phénoliques totaux.....	69
IV. 2. 2. 2. 2. Dosage des Flavonoïdes.....	70
IV. 2. 2. 3. Activité antibactérienne.....	70
IV. 2. 2. 3. 1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion.....	70
IV. 3. Analyse statistique.....	71

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. Résultats.....	72
V.1.1. Résultats de l'essai expérimental.....	72
V.1.1.1. Effets des différents alimentaires sur les performances zootechniques.....	72
V.1.1.1.1. Effet sur la consommation alimentaire.....	72
V.1.1.1.2. Effet sur le gain moyen quotidien (GMQ).....	72
V.1.1.1.3. Effet sur l'indice de consommation (IC).....	73
V.1.1.1.4. Effets sur le poids vif.....	73
V.1.1.1.5. Effets sur le rendement de carcasse (RC).....	74
V.1.1.1.6. Effets sur le poids des organes.....	75
V.1.1.1.7. Effet sur la longueur intestinale.....	76
V.1.1.2. Mortalité.....	77

V.1.1.3.	Effets des différents traitements alimentaires sur les paramètres biochimiques.....	77
V.1.1.3.1.	Effet sur la concentration plasmatique du cholestérol.....	77
V.1.1.3.2.	Effet sur la concentration plasmatique des triglycérides.....	78
V.1.1.3.3.	Effet sur la concentration plasmatique du glucose.....	79
V.1.1.4.	Effets des différents traitements alimentaires sur la flore cœcale	80
V.1.1.4.1.	Effet sur la population bactérienne cœcale à la fin de la phase de démarrage.....	80
V.1.1.4.2.	Effet sur la population bactérienne cœcale à la fin de la phase de croissance.....	81
V.1.2.	Résultat de l'étude <i>in vitro</i>	82
V.1.2.1.	Croissance de <i>Lactobacillus brevis</i> en présence des poudres de <i>Citrus</i>	82
V.1.2.2.	Extraction et quantification des composés phénoliques.....	83
V.1.2.2.1.	Rendement d'extraction.....	83
V.1.2.2.2.	Dosage phénoliques totaux.....	84
V.1.2.2.3.	Dosage des flavonoïdes.....	84
V.1.2.3.	Activité antibactérienne.....	85
V.1.2.3.1.	Tests de confirmation des souches étudiées.....	85
V.1.2.3.2.	Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion.....	85
V.1.2.3.2.1.	Effet antibactérien de l'extrait d'écorce d'orange.....	85
V.1.2.3.2.2.	Effet antibactérien de l'extrait d'écorce de citron.....	86
V.1.2.3.2.3.	Effet antibactérien de l'extrait de Nor-Spice AB®.....	87
V.2.	Discussion.....	88
V.2.1.	Effets de la supplémentation alimentaire sur les performances de croissance des poulets de chair.....	88
V.2.2.	Effets des différents régimes expérimentaux sur le poids vif et le rendement de carcasse des poulets de chair.....	91
V.2.3.	Effets des différents régimes expérimentaux sur les poids des organes internes.....	92
V.2.4.	Effets des différents additifs alimentaires sur les paramètres biochimiques.....	93
V.2.5.	Effets de la supplémentation alimentaire sur la morphométrie intestinale.....	95
V.2.6.	Effets des différentes rations alimentaires sur la flore cœcale des poulets.....	96
V.2.7.	Effets des différents additifs sur la croissance de <i>Lactobacillus brevis in vitro</i>	98
V.2.8.	Rendement d'extraction.....	100
V.2.9.	Quantification des composés phénoliques totaux.....	100

V.2.10. Quantification des flavonoïdes.....	101
V.2.11. Activité antibactérienne.....	102
Conclusion et Perspectives.....	106
Références bibliographiques.....	108
Annexes.	
Publication.	
ملخص	
Résumé.	
Abstract	

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique

AGV: acide gras volatil

AFC: Antibiotique facteur de croissance

AFSAA: Agence Française de Sécurité Alimentaire des Aliments

AlCl₃: Trichlorure d'Aluminium

ANOVA: Analyse de la variance

API: Analytical Profile Index

ATB : Antibiotique

ATCC: American Type Culture Collection

ATP: Adénosine Triphosphate

AVMY: Avilamycine

BEA: Bile Esculine Agar

C : Carbone

CA : Consommation alimentaire

CH : Carbohydate

CHE: Cholestérol Estérase

CH₄ : Méthane

CMV: complexe minéralo-vitaminé.

CO₂: dioxyde de carbone

conc: concentration

CPA: cellule présentatrice d'antigènes

CPT: Composés phénoliques totaux

DMSO: Diméthyle sulfoxyde

D.O : Densité optique

EAG: Equivalent Acide Gallique

***E.coli* :** *Escherichia coli*

EPEC: Extrait de la poudre d'écorce de citron

EPEO: Extrait de la poudre d'écorce d'orange.

ENSAB: Extrait de Nor-Spice AB®

EQ : Equivalent Quercétine
FOS: Fructo-oligosaccharides
G+ C: Guanine +Cytosine
G₃P: Glycérol-3-phosphate
GAS: galacto-oligosaccharides
GMQ: Gain moyen quotidien
GOD: Glucose- oxydase
GOS: Gluco-oligosaccharides
GPO: Glycérophosphate déshydrogénase
GRAF: *Enterococcus faecium* Glycolipid Resistant
HCl: Chlorure d'hydrogène.
HC-MS: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry.
HE: Huile essentielle
H₂: dihydrogène
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
IC: Indice de consommation
ITELV: Institut Techniques des Elevages
IgA: Immunoglobuline A
Kcal: Kilocalories
L. brevis: *Lactobacillus brevis*
LPL: Lipoprotéinelipase
log₁₀ : logarithme décimal
MOS: Mannan-oligosaccharides
MRS: Man Rogosa et Sharpe
MS: Matière sèche.
N : Normalité
NaCl : Chlorure de sodium
NSAB: Nor-Spice AB®
PEC: Poudre d'écorce de citron
PEO: Poudre d'écorce d'orange
pka: constante de dissociation
POD: Peroxydase

ppm: parts per million

RC: Rendement de carcasse

SM: Solution mère

sp: espèce

TEM: Témoin

UFC: Unités formant colonies

UI : Unité internationale

UV: Ultraviolet

Vit: vitamine

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01. Composition de la flore intestinale du poulet de chair.....	17
Tableau 02. Evolution de la composition de la flore digestive intestinale du poulet déterminée par clonage et séquençage en fonction de l'âge.....	19
Tableau 03. Composition de la flore digestive du poulet de chair déterminée par dénombrements bactériens.....	20
Tableau 04. Principaux additifs utilisés en alimentation animale.....	33
Tableau 05. Métabolites secondaires des plantes.....	44
Tableau 06. Familles et mécanismes d'actions des composés présentant une activité antibactérienne.....	46
Tableau 07. Composition des aliments de démarrage et de croissance.....	55
Tableau 08. Composition du CMV poulet de chair Méthio 180 (LACTAMEL®).....	56
Tableau 09. Protocole d'évaluation de la croissance de <i>L. brevis in vitro</i> en présence des poudres d'écorces d'orange et de citron et la poudre Nor-Spice AB®.....	68
Tableau 10. Effet des différents additifs alimentaires sur la consommation alimentaire.....	72
Tableau 11. Effets des différents additifs alimentaires sur le gain moyen quotidien.....	72
Tableau 12. Effets des différents régimes alimentaires sur l'indice de consommation (IC) alimentaire des poulets de chair.....	73
Tableau 13. Poids absolu des organes internes (moyenne \pm écart type) des poulets recevant un aliment standard ou un aliment supplémenté.....	75
Tableau 14. Taux de mortalité des poulets recevant un aliment standard ou supplémenté pendant la période expérimentale.....	77
Tableau 15. Effet des différents régimes alimentaires sur la population bactérienne cœcale (moyenne \pm écart type) à la fin de la phase de démarrage (J21).....	80
Tableau 16. Effet des différents régimes alimentaires sur la population bactérienne cœcale (moyenne \pm écart type) à la fin de la phase de croissance (J42).....	81
Tableau 17. Identification microscopique et biochimique des souches testées.....	85
Tableau 18. Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait d'écorce d'orange (<i>C. sinensis</i> L.) sur les souches bactériennes testées.....	86
Tableau 19. Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait d'écorce d'orange (<i>C. limonum</i> L.) sur les souches bactériennes testées.....	86
Tableau 20. Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait de Nor-Spice AB® sur les souches bactériennes testées.....	87

LISTE DES FIGURES

Figure 01. Anatomie du tractus digestif des volailles.....	3
Figure 02. Représentation schématique de la digestion chez le poulet.....	10
Figure 03. Digestion des glucides chez le poulet.....	12
Figure 04. Digestion des protéines chez le poulet.....	14
Figure 05. Digestion des lipides chez le poulet.....	16
Figure 06. Origine des bactéries et les facteurs susceptibles d’influencer le microbiote digestif au cours de la vie du poulet de chair.....	22
Figure 07. Modalités de contrôle de la flore digestive.....	31
Figure 08. Trajet des phytobiotiques dans l’organisme après ingestion.....	51
Figure 09. Effet des différents régimes alimentaires sur le poids vif des poulets de chair à la fin de la période expérimentale.....	74
Figure 10. Effet des différents régimes alimentaires sur le rendement de carcasse des poulets à la fin de l’essai.....	74
Figure 11. Effet des différents additifs alimentaires sur la longueur des intestins des poulets à la fin de l’essai.....	76
Figure 12. Effet des différents additifs alimentaires sur la concentration plasmatique du cholestérol total chez les poulets à la fin de la période d’essai.....	78
Figure 13. Effet des différents additifs alimentaires sur la concentration plasmatique des Triglycérides à la fin de la période d’essai.....	79
Figure 14. Effet des différents additifs alimentaires sur la concentration plasmatique du glucose chez les poulets à la fin de la période d’essai.....	80
Figure 15. Croissance de <i>Lactobacillus brevis</i> en présence de 0.2% de la poudre de <i>Citrus</i>	82
Figure 16. Rendements en extraits bruts obtenus à partir de la poudre Nor-Spice AB® et les poudres des écorces de citron et d’orange.....	83
Figure17. Teneur en composés phénoliques totaux pour les extraits de Nor-Spice AB®, la poudre d’écorce d’orange et la poudre d’écorce de citron.....	84
Figure18. Teneur en flavonoïdes pour les extraits de Nor-Spice AB®, la poudre d’écorce d’orange et la poudre d’écorce de citron.....	85

LISTE DES PHOTOS

Photo 01. Préparation des poussinières et mise en place des radiants.....	57
Photo 02. Mise en place des poussins.....	58
Photo 03. Mangeoires (linéaires à gauche et alvéoles à œufs à droite) et abreuvoirs cloches utilisés durant les dix premiers jours de l'élevage.....	60
Photo 04. Mangeoires trémies et système d'abreuvement utilisé à partir du 11 ^{ème} jour jusqu'à la fin de la période expérimentale.....	60

LISTE DES ANNEXES

Annexe 01. Espèces de *Citrus* et la poudre Nor-Spice AB® utilisés dans l'étude expérimentale

Annexe 02. Composition des milieux de culture.

Annexe 03. Coloration de Gram.

Annexe 04. Tests de la catalase et de l'oxydase.

Annexe 05. Aspect macroscopique des colonies bactériennes sur les milieux de culture et morphologie des bactéries au microscope après coloration de Gram.

Annexe 06. Table de lecture de la galerie API 20 E.

Annexe 07. Identification biochimique d'*Escherichia coli* par galerie Api 20 E.

Annexe 08. Identification biochimique de *Lactobacillus* par galerie Api 50 CH.

Annexe 09. Courbes d'étalonnage de l'acide gallique.

Annexe 10. Courbes d'étalonnage de la quercétine.

Annexe 11. Effet antibactérien de l'extrait phénolique de l'écorce d'orange sur les souches testées.

Annexe 12. Effet antibactérien de l'extrait phénolique de l'écorce de citron sur les souches testées.

Annexe 13. Effet antibactérien de l'extrait phénolique de Nor-Spice AB® sur les souches testées.

INTRODUCTION



INTRODUCTION

Les productions avicoles ont connu un essor spectaculaire au cours de ces dernières années en Algérie. Ainsi la filière avicole, notamment l'aviculture moderne a atteint un développement qui lui a permis d'occuper une place importante dans l'économie nationale en général (1,1% du produit intérieur brut) et dans l'économie agricole en particulier (12% du produit agricole brut) (**Belaid, 2015**).

L'élevage moderne en s'intensifiant a augmenté considérablement le risque d'apparition des maladies d'origine bactérienne surtout, ce qui a conduit à l'utilisation des antibiotiques dans l'alimentation comme moyens de prévention. En effet, l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance dans l'alimentation des volailles remonte aux années 50. A des doses sub-thérapeutiques, ces antibiotiques favorisent la croissance des animaux, améliorent l'efficacité de l'alimentation et préviennent les maladies augmentant ainsi la productivité de la filière avicole (**Katsunuma et al., 2007; Vidanarachchi et Coll., 2010**).

Cependant l'usage continu et généralisé des antibiotiques comme stimulateurs de croissance accroît le risque des résidus dans les denrées alimentaires d'une part et conduit à la sélection de souches pathogènes multi-résistantes d'autre part, ce qui constitue un problème majeur de santé publique en raison du transfert de la résistance des bactéries à l'homme via la chaîne alimentaire (**Vuuren, 2001; Founou et al., 2016**).

En conséquence, l'usage des antibiotiques dans l'alimentation des volailles a été restreint dans de nombreux pays de l'union européenne dans le but de préserver la sécurité alimentaire et de protéger par conséquent la santé publique (**Salim et al., 2013; Sharifi et al., 2013**).

Toutefois dans des pays comme l'Algérie où la production avicole est intensifiée, les antibiotiques sont largement utilisés à des fins thérapeutiques et prophylactiques. En outre, l'utilisation abusive de ces substances et le non respect de la période de retrait a entraîné un déséquilibre entre la flore intestinale bénéfique et la flore néfaste, ce qui a conduit à la sélection et à l'amplification des bactéries multi-résistantes (**Dibner et Richards, 2005**).

Le développement de plus en plus rapide des résistances et les menaces de la biosécurité pour la santé humaine et animale ainsi que l'accumulation de résidus d'antibiotiques dans les produits animaux et dans l'environnement limitent fortement l'usage de ces produits dans le secteur d'élevage intensif, ce qui aura sans doute un impact négatif sur

la rentabilité qui se traduit par une baisse de performances et une augmentation du coût de production (**Vieira et al., 2008**).

La recherche des alternatives à l'emploi des antibiotiques facteurs de croissance s'avère aujourd'hui incontournable. Toutefois ces produits de substitution doivent à la fois être efficaces sur le plan zootechnique et apporter les garanties nécessaires en matière de sécurité alimentaire. Ainsi, de nombreuses alternatives telles que les enzymes, les acides organiques, les probiotiques et les prébiotiques ont été utilisées comme activateurs de croissance mais une attention particulière est désormais attribuée aux extraits végétaux comme promoteurs de croissance (**Huyghebaert et al., 2011**).

Plusieurs phytobiotiques ont été étudiés pour leurs effets sur les performances de croissance chez les poulets. Il a été signalé que certains produits naturels principalement les composés phénoliques peuvent présenter une activité antimicrobienne et antioxydante puissante, ce qui conduit à améliorer la santé intestinale et par conséquent à augmenter l'efficacité de l'alimentation (**Akbarian et al., 2013a**).

Ces composés bioactifs se trouvent en grande quantité dans certains fruits comme les agrumes en particulier l'orange douce et le citron dont les écorces sont considérées comme une source potentielle de nombreux composants actifs tels que les flavonoïdes comme l'héspéridine et la naringine, les composés phénoliques, l'acide ascorbique, la vitamine C, la pectine et les huiles essentielles (**Ebrahimi et al., 2013**).

L'agrumiculture occupe une place importante en Algérie et la production des agrumes est en progression rapide, ce qui pose un sérieux problème pour les unités de transformation et de fabrication des jus qui se trouvent face à un grand tonnage de déchets et de résidus formés principalement par les fruits rejetés au triage et par les écorces dont des milliers de tonnes sont déversés à la mer, dans les cours ou laissés pourrir au soleil constituant ainsi un danger pour l'environnement. De ce fait, plusieurs approches ont été appliquées pour réduire le taux de pollution d'une part et pour éviter la perte de précieux éléments nutritifs d'autre part. L'une de ces approches consiste à utiliser certains de ces sous-produits comme additifs dans l'alimentation des animaux de ferme dans le but d'obtenir un produit alimentaire de meilleure qualité et d'améliorer les performances zootechniques des animaux.

En effet, la pulpe obtenue après l'extraction de jus et des huiles essentielles des agrumes présente un intérêt particulier dans la majorité des pays du bassin méditerranéen comme source d'énergie pour les ruminants (**Rihani, 1991**).

Par ailleurs, les écorces d'agrumes riches en citroflavonoïdes, en pectine et en huiles essentielles représentent une source appréciable d'aliments pour les bovins mais leur valorisation comme co-produits dans l'alimentation des volailles dans un pays comme l'Algérie où la production avicole occupe une place importante devrait être envisagée (**Schwob et Huet, 1965**).

Toutefois ces additifs naturels doivent assurer l'intégrité du tube digestif et préserver la santé intestinale des oiseaux en assurant le développement d'une flore bactérienne saine qui assure une bonne digestion des nutriments ce qui aurait sans doute un impact positif sur les performances de croissance des animaux (**Gabriel et al., 2005**).

Dans ce contexte, l'objectif général de cette étude est d'examiner la possibilité d'utiliser les sous-produits d'agrumes comme additifs alimentaires chez le poulet de chair. De façon spécifique, le présent travail vise à étudier les effets de l'incorporation des sous produits d'agrumes à l'état brut (écorces de citron et d'orange douce) et d'un extrait de citrus standardisé sur les performances de croissance des poulets de chair, les caractéristiques de leurs carcasses, les paramètres sanguins ainsi que leurs effets sur la flore digestive des volailles d'une manière générale et leur effet sur les bactéries lactiques en particulier.

Ce manuscrit est structuré en deux parties :

1. Une Étude bibliographique qui présente ;
 - Un premier chapitre sur un rappel anatomique et physiologique de l'appareil digestif des volailles.
 - Un deuxième chapitre sur l'étude de la flore digestive des volailles.
 - Un troisième chapitre sur les additifs alimentaires utilisés en alimentation animale.
2. Une partie expérimentale composée de deux volets à savoir :
 - Un essai expérimental portant sur l'utilisation des additifs alimentaires à base d'agrumes chez le poulet de chair.
 - Un essai *in vitro* portant sur l'étude de l'effet de ces additifs sur la croissance d'une souche bactérienne du genre *Lactobacillus* et sur l'activité antibactérienne de trois extraits de *Citrus*.

Ces deux parties se terminent par une discussion générale permettant de conduire à une réflexion sur les résultats obtenus et sur les perspectives pour la poursuite de ce travail.

*ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE*



CHAPITRE I :

Anatomie et physiologie digestive des volailles



I. 1. Anatomie de l'appareil digestif

L'appareil digestif des volailles présente une originalité anatomique depuis la cavité buccale jusqu'au cloaque. Cette originalité est le fait de la présence d'un véritable «bucopharynx» et de la division de l'estomac en deux compartiments, l'un chimique appelé le proventricule et l'autre mécanique appelé le gésier (Souilem et Gogny, 1994).

L'anatomie du tractus digestif du poulet est illustrée par la figure 01.

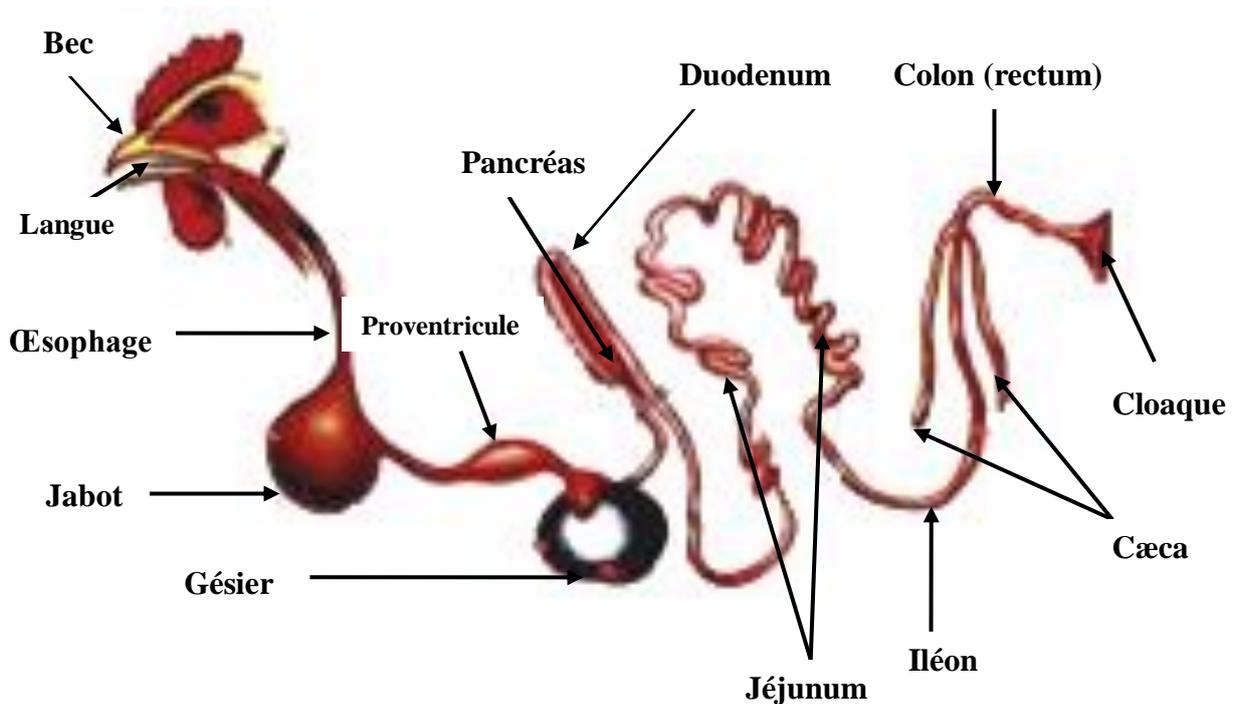


Figure 01. Anatomie du tractus digestif des volailles (d'après Moran, 1982).

Le tube digestif est divisé sur le plan anatomique en trois régions :

I. 1. 1. Région crâniale

I. 1. 1. 1. Le bec

Le tractus digestif du poulet débute par le bec qui permet la préhension de l'aliment. La forme du bec est différente selon la classe des oiseaux et reflète souvent une adaptation à un régime alimentaire particulier. Le bec est composé dorsalement par la maxille ou bec supérieur et ventralement par la mandibule ou bec inférieur (Villate, 2001).

Le bec du poulet possède de nombreux récepteurs tactiles et un système de perception des odeurs très développé permettant de préparer le tractus digestif à l'alimentation (Almargot, 1982).

I. 1. 1. 2. La cavité buccale

La bouche est limitée dans sa partie rostrale par les tommies et dans sa partie caudale par le pharynx mais les limites avec ce dernier sont difficiles à préciser anatomiquement d'où le nom de buccopharynx ou d'oropharynx donné à l'ensemble bouche et pharynx. La cavité buccale est recouverte d'un épithélium muqueux, sauf dans sa portion rostrale où le revêtement est corné (rhamphothèque) (Villate, 2001).

Le plafond de la bouche est fendu longitudinalement par la fissure palatine dans laquelle débouchent les deux choanes qui sont séparées par l'os vomer. A l'intérieur de la bouche se trouve un palais dur dépourvu de voile et composé de cinq rangées de papilles filiformes et se trouve aussi de nombreuses glandes salivaires (Behira, 2012).

I. 1. 1. 3. La langue

C'est un organe situé sur le plancher de la cavité buccale, il présente une grande variabilité de forme, de taille et de mobilité entre les différentes classes des oiseaux. La langue de la poule est triangulaire (sagittée), limitée en arrière par des papilles filiformes cornées et possède à son apex un pinceau de soies tactiles. Elle est recouverte d'un épithélium corné qui lui donne une apparence dure et contient de nombreux récepteurs gustatifs. Elle est soutenue par l'appareil hyoïdien (os et cartilages) et renferme l'entoglosse. Les muscles intrinsèques et rudimentaires de la langue lui confèrent une souplesse très réduite (Almargot, 1982).

I. 1. 1. 4. Les glandes salivaires.

Elles sont groupées en massifs éparpillés. Chaque glande possède une centaine de fins canaux excréteurs. On distingue les glandes mandibulaires, palatines, maxillaires, sublinguales, linguales, angulaires, cricoaryténoïdes et sphénoptérygoïdes. Ces glandes produisent la salive qui lubrifie les aliments (Behira, 2012).

I. 1. 1. 5. Le pharynx

Le pharynx est le carrefour du tube digestif et des voies respiratoires. C'est un organe difficile à délimiter chez les oiseaux. Anatomiquement, il est limité rostralement à la dernière rangée de papilles filiformes du palais et de la langue, et caudalement à l'entrée de l'œsophage, marquée également d'une petite rangée de papilles (Behira, 2012).

I. 1. 1. 6. L'œsophage

L'œsophage est un organe tubuliforme musculo-muqueux qui achemine les aliments de la cavité buccale à l'estomac. Il est situé dorsalement puis à droite de la trachée dans son trajet cervical (**Villate, 2001**). Dans sa portion intra-thoracique, l'œsophage redevient médian et dorsal à la trachée. Il dévie vers la gauche après la bifurcation bronchique (syrinx) puis passe dorsalement aux gros vaisseaux du cœur avec lesquels il adhère quelque peu. Il se termine dorsalement au foie en s'abouchant au proventricule (**Almargot, 1982**).

L'œsophage est tapissé dans toute sa longueur d'une muqueuse aux plis longitudinaux très marqués. Il possède une musculature longitudinale interne très développée et est très dilatable (**Behira, 2012**).

I. 1. 1. 7. Le jabot.

Le jabot est un élargissement de l'œsophage en forme de réservoir situé à la base du cou (**Leclercq et Larbier, 1992**). Il se présente chez la poule sous la forme d'un sac ventral très extensible qui adhère dans sa partie ventrale à la peau et aux muscles sous-cutanés du cou et dans sa partie caudo-dorsale aux muscles pectoraux droits. Sa paroi est très mince et possède une musculature lisse peu développée mais riche en fibres élastiques (**Almargot, 1982**).

I. 1. 2. Région stomacale du tube digestif**I. 1. 2. 1. Le proventricule.**

Le proventricule appelé aussi l'estomac glandulaire ou sécrétoire du poulet est situé légèrement à gauche dans la cavité abdominale, ventralement à l'aorte, dorsalement au foie qui l'enveloppe partiellement (**Almargot, 1982**). C'est un renflement fusiforme de 3 cm de long en moyenne chez la poule dont la muqueuse est très riche en glandes de deux types : les glandes tubulaires qui secrètent le mucus et les glandes gastriques avec leurs cellules oxynticopeptiques qui secrètent l'acide chlorhydrique et la pepsine. Le proventricule est séparé du gésier par un isthme appelé la zone intermédiaire gastrique (**Guardia, 2011**).

I. 1. 2. 2. Le gésier

Le gésier ou l'estomac musculaire du poulet est l'organe compact le plus volumineux de la poule (6 à 8 cm de long, avec un poids d'environ 50 g vide et 100 g plein). Il est situé légèrement à gauche dans la cavité abdominale, partiellement coiffé par le foie sur son bord cardinal (**Almargot, 1982**).

De forme sphéroïde, il est crânialement en communication avec le proventricule et crânio-médialement avec le duodénum (**Behira, 2012**).

Les deux muscles principaux du gésier s'unissent de chaque côté de l'organe par deux surfaces tendineuses nacrées appelées les centres tendineux. Le gésier est rattaché au sternum et à la paroi abdominale par le ligament ventral ou mésentère ventral, au foie par le ligament gastro-hépatique et à la paroi dorsale de l'abdomen par le mésogastre. Il divise longitudinalement la cavité abdominale en deux compartiments ce qui lui a valu parfois le nom « diaphragme vertical » (**Almargot, 1982**).

I. 1. 3. Région postérieure du tube digestif

I. 1. 3. 1. Le duodénum.

C'est l'anse intestinale la plus ventrale dans la cavité abdominale, d'un diamètre moyen de 0,8 à 2cm chez la poule. Elle débute du pylore puis enserre le pancréas sur une longueur de 15 à 20 cm en formant un U, avec une branche ascendante dorsale droite et une branche descendante ventrale gauche. Caudalement, elle contourne le gésier et dorsalement elle est en rapport avec les cæca. L'anse duodénale renferme de nombreux amas lymphoïdes, sa musculature circulaire est plus développée et ses villosités sont aplaties (**Villate, 2001**).

La fin du duodénum est limitée par une papille qui reçoit l'abouchement de trois canaux pancréatiques et de deux canaux biliaires et marque la fin du duodénum et le début de l'iléon (**Souilem et Gogny, 1994**).

I. 1. 3. 2. Le jéjunum

Le jéjunum est la portion la plus longue de l'intestin (120 cm chez la poule) pour un diamètre de 0,6 à 1 cm. Il débute au niveau de la papille duodénale et se termine au niveau du diverticule de Meckel. Il est divisé en deux parties dont la partie proximale est la plus importante et s'appelle le tractus du Meckel et l'autre est un petit nodule parfois visible sur le bord concave de ses courbures (**Almargot, 1982**).

I. 1. 3. 3. L'iléon

L'iléon est court (13 à 18cm) et rectiligne, il renferme 6 à 8 plaques de Peyer et aboutit à l'abouchement des cæca et le début du rectum (**Behira, 2012**).

Le mésentère du jéjunum se distingue de façon caractéristique du mésentère de l'iléon: la couche de graisse est plus épaisse dans le mésentère iléal et s'étend jusqu'au point d'attachement intestinal. L'épithélium est simple et riche en cellules caliciformes.

C'est au niveau de l'iléon que se déroule la majeure partie de la digestion chimique et l'absorption des aliments (**Souilem et Gogny, 1994**).

I. 1. 3. 4. Le rectum

Le rectum fait suite à l'iléon et débouche dans le cloaque, sa longueur est d'environ 10 cm et son diamètre à peine plus gros que celui de l'iléon. Le rectum des oiseaux à la différence des mammifères présente des villosités. Il réabsorbe l'eau de son contenu (fèces et urine) ce qui lui a valu le nom de colorectum (**Souilem et Gogny, 1994**).

I. 1. 3. 5. Les cæca

Ils sont au nombre de deux, se sont deux sacs qui débouchent dans le tube intestinal, accolés à la partie terminale de l'iléon et plus précisément à la jonction de l'iléon et du rectum au niveau de la valvule iléo-cæcale (**Almargot, 1982**).

Les cæca sont en rapport ventralement avec l'anse duodénale et dorsalement avec la portion moyenne de l'iléon. Lorsqu'ils sont bien développés (comme chez la poule, ils font 15 à 20cm de long), ils ont des villosités et sont remplis d'une pâte onctueuse et fétide. Toute l'originalité morphologique et fonctionnelle de l'intestin réside dans les cæca car et ils interviennent dans l'équilibre hydrominéral et beaucoup dans les phénomènes immunologiques, grâce aux amygdales disposées à leur entrée (**Souilem et Gogny, 1994**).

I. 1. 3. 6. Le cloaque

C'est la partie terminale de l'intestin dans laquelle débouchent les conduits urinaires et génitaux. Anatomiquement, il est divisé en trois régions d'origine endoblastique séparées par deux plis transversaux. Ces régions sont :

- **Le coprodéum:** c'est la partie crâniale du cloaque où s'accumulent les fèces avant leur émission (**Villate, 2001**).
- **L'urodéum:** c'est le segment moyen du cloaque. Dans sa paroi dorsale débouchent les deux uretères ainsi que les deux canaux déférents chez le mâle ou l'oviducte chez la femelle (**Souilem et Gogny, 1994**).
- **Le proctodéum:** c'est la partie caudale du cloaque. Chez les jeunes, avant l'involution de la bourse de Fabricius (10^{ème} ou 11^{ème} semaine), il est relié dorsalement à cet organe lymphoïde avec lequel il communique par un canal. Le cloaque s'ouvre à l'extérieur par l'orifice cloacal ventral délimité par deux lèvres horizontales dont la musculature comme celle des parois du cloaque est striée (**Souilem et Gogny, 1994**).

I. 2. Physiologie de la digestion chez les volailles**I. 2 .1. Mécanismes de la digestion et de l'absorption**

La digestion est la dégradation mécanique et/ou chimique de l'aliment dans le tube digestif en composés nutritifs solubles dans le sang et assimilables par les cellules. Les différents organes constituant l'appareil digestif ont des actions spécifiques et interviennent successivement dans le processus de digestion à mesure que l'aliment transite. En effet, l'aliment est ingéré par la bouche (bec, langue) sans subir une mastication puis le bol alimentaire est lubrifié par le suc salivaire riche en mucus ce qui facilite son passage dans l'œsophage (**Dusart, 2015**).

Les sécrétions acides du proventricule permettent notamment la solubilisation du carbonate de calcium qui intervient par exemple dans la formation de la coquille chez la poule pondeuse. Le chyme est puissamment broyé dans le gésier et ce broyage est d'autant plus efficace que l'animal aura ingéré du grit (cailloux siliceux) résistant aux sécrétions du proventricule (**Sourokou Sabi, 2014**).

La pepsine sécrétée dans le proventricule conduit à l'hydrolyse des protéines dans le gésier. La solubilisation des nutriments se poursuit le long de l'intestin grêle sous l'action des sucs pancréatiques et biliaires (**Sourokou Sabi, 2014**).

Le chyme est ensuite temporairement stocké dans les cæca où les bactéries fermentaires permettant une dernière digestion et absorption des nutriments avant d'atteindre le colon (**Dusart, 2015**).

Les voies digestives et urinaires convergent au niveau du cloaque par lequel sont expulsées les fientes (urine et excréments). L'eau et les électrolytes de l'urine peuvent être réabsorbés au niveau des cæca (figure 02). Les nutriments (glucides, lipides, acides aminés), produits de la digestion passent successivement de la lumière de l'intestin, dans les entérocytes puis dans le sang. L'absorption met en jeu différents mécanismes d'échanges cellulaires à savoir la diffusion passive et le transport actif (**Dusart, 2015**).

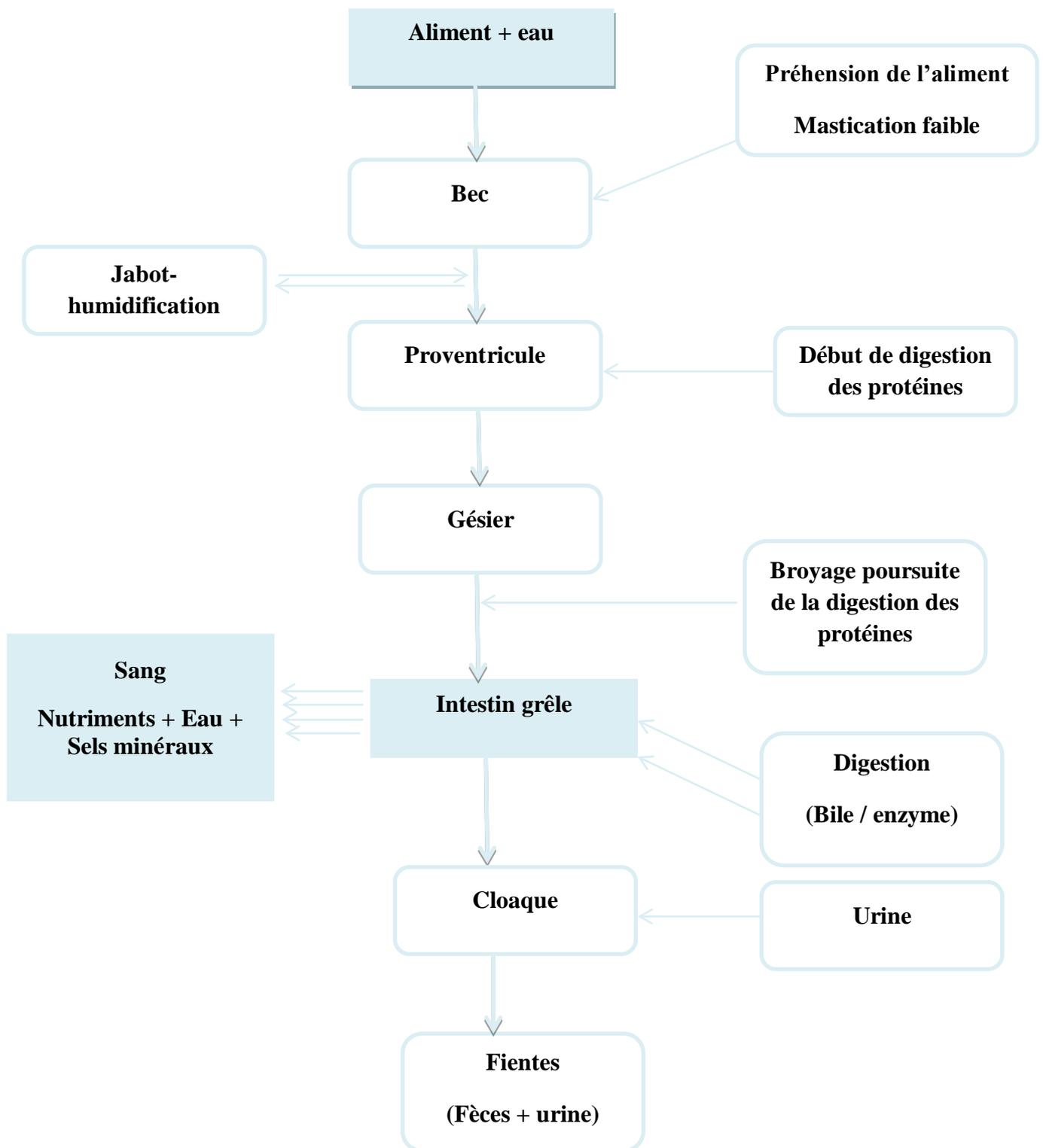


Figure 02. Représentation schématique de la digestion chez le poulet (d'après Dusart, 2015)

I. 2. 1. 1. Glucides

Les glucides se trouvent dans l'aliment principalement sous forme d'amidon, composé d'amylopectine et d'amylose. Ce dernier moins bien digérée par les monogastriques que l'amylopectin est hydrolysée essentiellement en maltose et maltotriose par l' α -amylase (Denbow, 1999). L'amylopectine conduit à des dextrines qui sont des oligosaccharides composés d'au moins quatre molécules de glucose. Le maltose et l'isomaltose pourront à leur tour être hydrolysés en glucose par la maltase et l'isomaltase. Le saccharose est hydrolysé en glucose et fructose par la sucrase (**Guardia, 2011**, Figure 03)

.Le glucose et le fructose ainsi produits sont absorbés au niveau de la muqueuse intestinale, en particulier au niveau du duodénum. Cette absorption s'effectue à 80% par des mécanismes de transport actif et par diffusion passive et active (**Denbow, 1999**).

L'alimentation des volailles contient aussi des polysaccharides non amylacés hydrosolubles ou non et des α -galactosides dont l'animal ne dispose pas d'enzymes hydrolytiques capables de les dégrader. Les polysaccharides non amylacés hydrosolubles augmentent la viscosité du bol alimentaire et limitent l'hydrolyse des différents composants de l'aliment (**Denbow, 1999**). Les glucides insolubles des parois cellulaires peuvent bloquer l'accès des enzymes digestives à leur substrat. Ces différents composants glucidiques sont dégradés par la flore microbienne (**Klasing et al., 1998**).

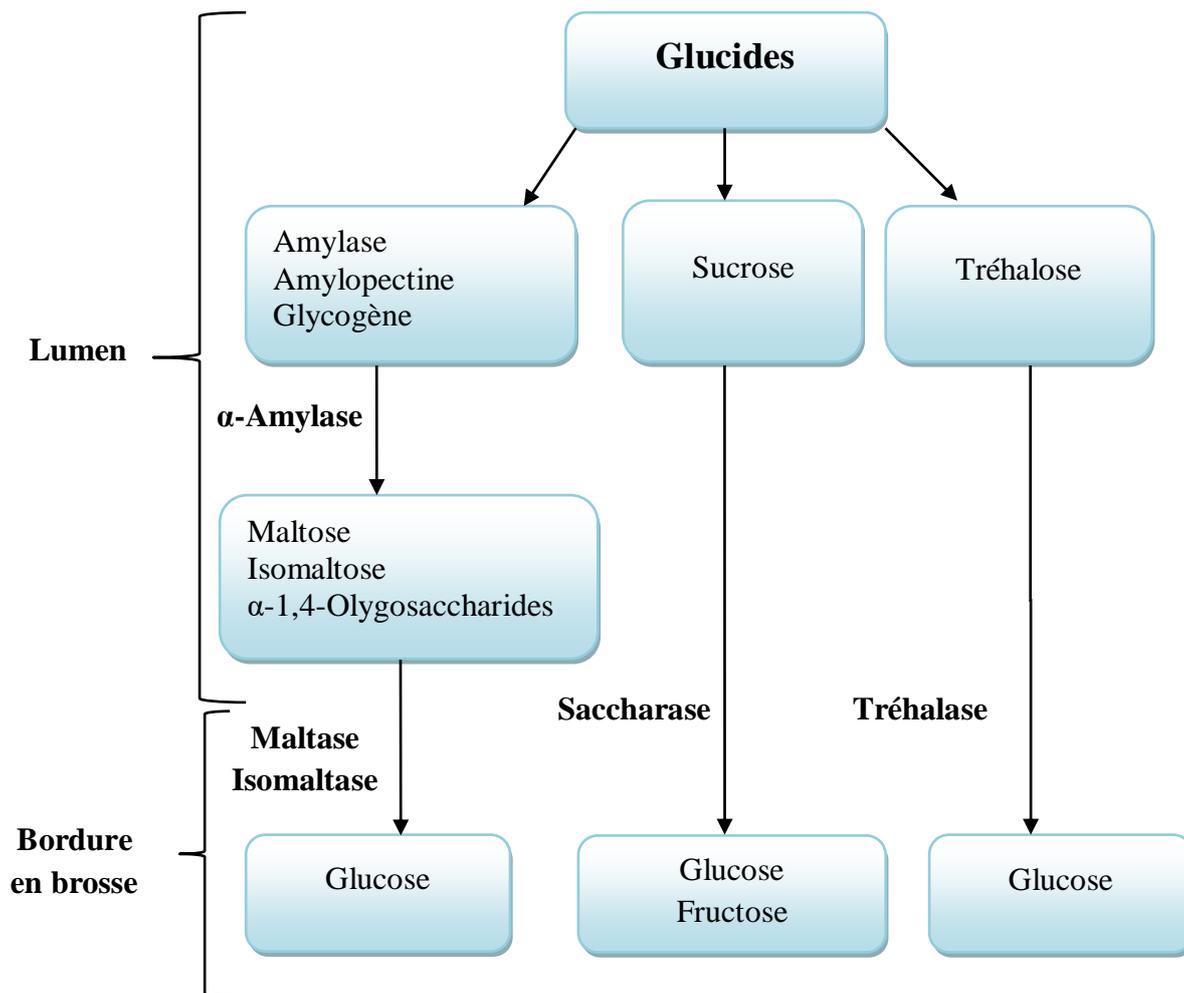


Figure 03. Digestion des glucides chez le poulet (d'après Guardia, 2011)

I.2.1. 2. Protéines

Les protéines présentes dans l'intestin sont composées des protéines alimentaires qui diffèrent par leurs structures et leur sensibilité à l'hydrolyse ainsi que des sécrétions protéiques endogènes de l'animal (Créviu-Gabriel, 1999).

L'hydrolyse des protéines se fait en cascade et fait intervenir plusieurs enzymes. Elle est initiée au niveau du proventricule et le gésier où le pH acide dénature la structure des protéines (Denbow, 1999). Ces dernières sont tout d'abord hydrolysées par la pepsine en polypeptides qui seront par la suite hydrolysés par d'autres endopeptidases intestinales en fonction de leur composition en acides aminés.

Ainsi la chymotrypsine hydrolyse les polypeptides au niveau de liaisons impliquant des acides aminés aromatiques, la trypsine les hydrolyse au niveau de liaisons impliquant des acides aminés basiques et l'élastase les hydrolyse au niveau de liaisons impliquant des acides aminés portant de petits groupements non chargés.

Les produits issus de l'hydrolyse par les endopeptidases sont par la suite hydrolysés par des exopeptidases (**Klasing, 1998**). Ainsi la carboxypeptidase A hydrolyse les produits libérés par la chymotrypsine et l'élastase en oligopeptides, acides aminés neutres et acides. A l'inverse, la carboxypeptidase B hydrolyse les produits libérés par la trypsine en oligopeptides et acides aminés basiques.

Le processus d'hydrolyse des oligopeptides en acides aminés se poursuit au niveau de la bordure en brosse des entérocytes sous l'action d'aminopeptidases et de dipeptidases (**Guardia, 2011**, figure 04). Les acides aminés sont principalement absorbés au niveau des entérocytes de l'intestin grêle, bien qu'ils soient aussi absorbés dans les parties antérieures du tractus digestif (jabot, proventricule et gésier), ainsi qu'au niveau des parties inférieures (cæca et colon). Les métabolites issus de la digestion des protéines peuvent être absorbés sous forme d'acides aminés, de dipeptides et tripeptides (**Gilbert et al., 2010**). L'absorption intestinale s'effectue par l'action de transporteurs actifs ATP dépendants couplés au Na⁺ (**Denbow, 1999**).

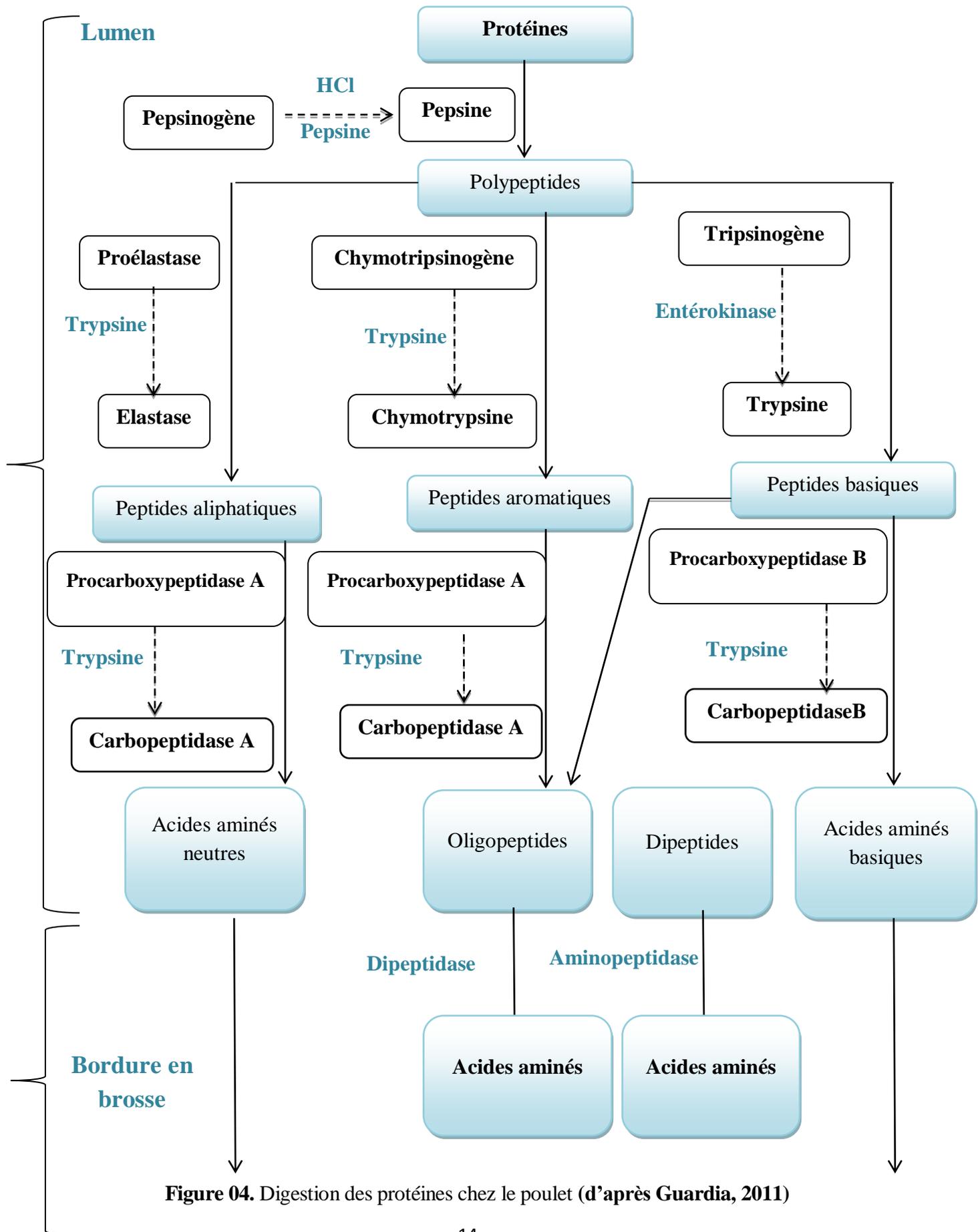


Figure 04. Digestion des protéines chez le poulet (d'après Guardia, 2011)

I. 2 .1. 3. Lipides

En raison de leur caractère hydrophobe, la digestion des lipides se fait par émulsion et leur absorption se fait par simple diffusion à travers la bicouche lipidique des entérocytes **(Denbow, 1999)**.

La digestion des lipides commence dans le gésier où l'émulsion est facilitée par les contractions du gésier et par la présence de peptides issus de l'hydrolyse des protéines. L'émulsion des lipides se poursuit ensuite dans l'intestin grêle en présence des acides biliaires. Les étapes séquentielles de digestion des lipides par les enzymes pancréatiques et intestinales et la libération des acides gras demeurent toutefois inconnues chez les oiseaux **(Denbow, 1999)**.

Les acides gras libérés, les phospholipides et les monoglycérides issus de l'hydrolyse pénètrent par la suite dans les micelles formées grâce aux acides biliaires. Chez le poulet, les lipases et phospholipases présentes au niveau de la bordure en brosse des entérocytes jouent un rôle non négligeable dans la digestion des lipides (figure 05).

Les acides gras ainsi formés sont absorbés dans la partie distale du jéjunum et dans l'iléon mais les mécanismes d'absorption sont mal connus chez les oiseaux. Au niveau de la bordure en brosse, les acides gras peuvent traverser la membrane cellulaire des entérocytes par diffusion passive **(Guardia, 2011)**.

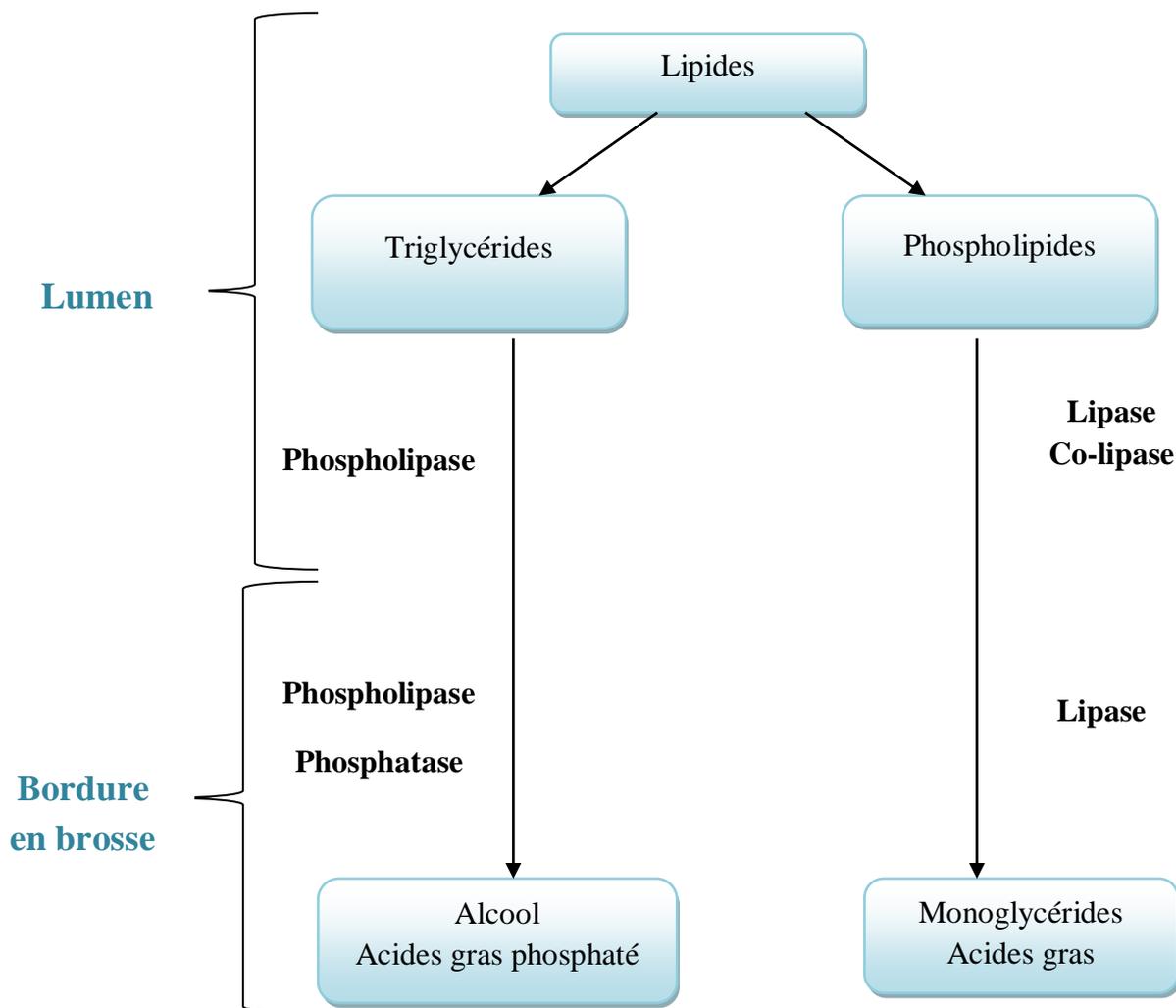


Figure 05. Digestion des lipides chez le poulet (d'après Gardia, 2011)

I. 2. 1. 4. Eau

L'eau provenant de l'aliment, de l'abreuvement et du métabolisme est absorbée tout le long de l'intestin grêle, du colon et des cæca par diffusion à travers la membrane épithéliale. L'absorption de l'eau dans l'intestin grêle est stimulée par l'absorption de certains nutriments tels que les acides aminés et les monosaccharides (Dusart, 2015).

Chez les poulets, l'urine produite est très diluée et peut remonter dans le colon pour atteindre les cæca par mouvement de rétro-péristaltisme. L'eau, le chlore et le sodium peuvent alors être réabsorbés dans les différents compartiments que traverse l'urine à savoir le coprodéum et le colon et particulièrement dans les cæca (Guardia, 2011).

CHAPITRE II :
*La flore digestive des
volailles*



II. 1. Définition

La flore digestive au sens large désigne l'ensemble des micro-organismes vivants dans le tube digestif. Quantitativement, c'est la plus importante de toutes les flores commensales surdépassant le nombre des cellules de l'hôte qui l'héberge d'un facteur de 10 et le nombre de gènes d'un facteur de 100 (**Gabriel et al., 2005**).

La flore digestive varie selon des segments du tractus digestif, elle peut se trouver dans la lumière intestinale engloutie dans la couche de mucus ou adhérer à la muqueuse digestive pour former des couches cellulaires importantes (**Chafai, 2006**).

La flore luminale dépend de la teneur du milieu en oxygène, des nutriments disponibles, de la vitesse de transit et de la présence ou non de substances antimicrobiennes (**Schrezenmeir et De Vrese, 2001**).

La flore mucoale est liée à l'expression de sites d'adhésion spécifiques sur les membranes des entérocytes, de la vitesse de production de mucus, de la production d'immunoglobulines sécrétoires et de l'extrusion de matériel cellulaire de la membrane (**Gabriel et al., 2005 ; Chouder, 2006**).

Chez les oiseaux comme chez toutes les espèces animales, le microbiote digestif est un écosystème complexe composé d'une communauté microbienne à prédominance bactérienne et de proportions variables d'archées, de virus et d'eucaryotes (protozoaires, champignons et levures) (**Rogel- Gaillard, 2014**). Ainsi dans une Analyse métagénomique de la flore de l'intestin grêle et des cæca de poulet, presque la totalité des séquences identifiées appartiennent aux bactéries (Tableau 01)

Tableau 01. Composition de la flore intestinale du poulet de chair (**Rogel- Gaillard, 2014**).

	Intestin grêle	Cæca
Bactéries	91,6%	97,1- 97,8%
Eucaryotes	4,2%	0,5- 2,1%
Virus	3,8%	0,1- 0,3%
Archées	0,4%	0,04- 2,1%

II. 2. Cinétique de développement de la flore digestive

Le tube digestif est stérile à l'éclosion et l'implantation de la flore dépend principalement de l'environnement de l'œuf au moment de l'éclosion. Les communautés bactériennes présentes dans le tube digestif des volailles sont influencées par plusieurs facteurs tels que l'alimentation, les conditions d'élevage, l'âge, la densité des oiseaux et les pathologies. Toutefois, des différences qualitatives et quantitatives de l'écosystème bactérien existent entre les individus élevés dans les mêmes conditions (**Albazaz, 2014**).

La flore digestive augmente rapidement après l'éclosion. En effet dès le premier jour, l'iléon et les cæca hébergent 10^8 et 10^{10} bactéries par gramme de contenu digestif, respectivement (**Apajalahti et al., 2004**). Ce nombre continue à augmenter progressivement pour atteindre 10^9 et 10^{11} UFC/g au 3^{ème} jour puis reste stable relativement jusqu'à l'âge de 30 jours (**Gabriel et al., 2005**).

Ainsi dès le premier jour, le tube digestif (du jabot jusqu'aux cæca) est colonisé rapidement par les streptocoques, les coliformes et les clostridies. Cependant, les lactobacilles et les bactéroïdes se localisent principalement dans les cæca après le 3^{ème} jour et le 5^{ème} jour, respectivement (**Knarreborg et al., 2002**).

La flore se diversifie avec l'âge: la flore iléale est caractérisée par le développement de différentes espèces de lactobacilles, une augmentation transitoire des streptocoques et une augmentation continue de *Clostridium perfringens* (**Gabriel et al., 2005**).

Dans les cæca, bien que les clostridies soient toujours majoritaires, le nombre des lactobacilles est très important au 3^{ème} jour d'âge puis diminue au profit des clostridies au 7^{ème} jour, les fusobactéries sont prédominant à l'âge de 21 jours puis à nouveau les clostridies à l'âge de 49 jours (**Lu et al., 2003**, Tableau 02).

Tableau 02. Evolution de la composition de la flore digestive intestinale du poulet déterminée par clonage et séquençage en fonction de l'âge (Lu et al., 2003).

Segment	Groupe	Classe	Pourcentage de classe (2,3)					
			3	7	14	21	28	49
Jejunum	Gram+ faible G+C	<i>Lactobacillaceae</i>	61,1	63,3	63,7	65,8	86,3	69,8
		<i>Clostridiaceae</i> ⁽⁷⁾	16,9	1,1	6,9	14,9	6,4	19,2
Iléon		<i>Bacillaceae</i>				2,6		4,0
		<i>Staphylococcaceae</i>	2,1					
		<i>Streptococcaceae</i>	2,1	17,8	16,7	2,6	0,9	2,0
		<i>Enterococcaceae</i>	3,2	15	12,8	2,6	2,7	2,0
	Gram+ fort G+C	<i>Fusobacteriaceae</i>				4,4		
		<i>Bifidobacteriaceae</i>		1,1				
	Gram- Proteobactéries ⁽⁴⁾		13,7					
	Gram- ⁽⁵⁾	<i>Bacteroidaceae</i>				2,6	1,0	
	Bactéries inconnues		2,1		4,4	3,6	4,0	
Cæca	Gram+ faible, G+C	<i>Lactobacillaceae</i>	25,7	4,3	9,9	1,0	0,9	7,2
		<i>Clostridiaceae</i> ⁽⁷⁾	51,4	85	73	56,6	56,1	74,2
		<i>Bacillaceae</i>			2,7	4,0	1,8	
		<i>Streptococcaceae</i>	2,9					1,0
		<i>Enterococcaceae</i>	1,9	2,2	0,9		0,9	2,0
	Gram+ faible, G+C	<i>Fusobacteriaceae</i>		2,2	9,0	27,3	35,1	7,2
	Gram-, Proteobactéries ⁽⁶⁾		15,2	2,2	9,9	27,3	35,1	7,2
	Gram – ⁽⁴⁾	<i>Flavobacteriaceae</i>	1,0					
		<i>Bacteroidaceae</i>	1,0	5,4	3,6	10,1	5,3	5,2
	Bactéries inconnues		1,0	1,1		1,0	0,9	3,1

(1) Poulets de chair à croissance rapide élevés en conditions commerciales, consommant un régime composé de maïs et de soja, sans antibiotique.

(2) 10 individus de 3 et 7 j, 5 individus de 14 à 49 j.

(3) Entre 90 et 114 clones analysés par âge.

(4) *Ochrobacterium*, *Alcaligenes*, *A. faecalis*, *Campylobacter*, *Escherichia*.

(5) *Cytophaga*, *Flexibacter*, *Bacteroides*.

(6) *Ochrobacterium anthropi*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Escherichia coli*.

(7) *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium*

Un grand nombre de bactéries de l'intestin des poulets sont Gram+ et comprennent principalement des anaérobies facultatifs du jabot à la partie terminale de l'iléon. Les oiseaux possèdent un organe spécialisé (cæcum) à la partie terminale du tube digestif qui offre un environnement riche en nutriments pour des millions de bactéries (10^{11} UFC/g) appartenant à 200 souches ou plus (Albazaz, 2014).

La flore cæcale est largement distribuée en trois parties (Albazaz, 2014) :

- Une flore dominante représentant 90% de la flore totale ($> 10^6$ UFC/g contenu), composée principalement de *Bifidobacterium* sp., *Lactobacillus* sp. et *Bacteroides* spp.
- Une flore sous-dominante représentant 1% de la flore totale (10^5 à 10^3 UFC /g de contenu), composée principalement d'*Enterococcus* sp., *Streptococcus* sp. et *Escherichia coli*.
- Une flore résiduelle : sa proportion est inférieure à 0.01% ($<10^3$ UFC / g contenu), elle comporte des bactéries appartenant aux genres *Proteus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et *Clostridium* ainsi que des levures et des champignons (Tableau 03).

Tableau 03. Composition de la flore digestive du poulet de chair déterminée par dénombrements bactériens (d'après Smith, 1965 cité par Gabriel et al., 2005)

Groupes majoritaires	Nombre de bactéries viables (log 10 UFC/g de contenu)						
	Jabot	Gésier	Intestin 1(2)	Intestin 3	Intestin 5	Intestin 7	Caeca
Lactobacilles	8,7	7,3	8,0	8,2	8,2	8,6	8,7
Streptocoques	4,0	3,7	4,0	4,0	3,7	4,2	6,7
<i>Escherichia coli</i>	1,7	nd	2,0	1,7	1,7	2,7	5,6
<i>Clostridium perfringens</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,7
Bactéroïdes	nd	nd	nd	nd	nd	nd	8,7
Levures	2,7	nd	1,7	nd	1,7	nd	2,0

nd: organisme non détecté, c'est-à-dire quantité dont le log10 est inférieur à 1,7 / g.

- (1) poulets de chair adultes issus d'un élevage (6 individus), consommant un régime composé de céréales et de farine de poisson (10-15 %) sans antibiotique.
- (2) L'intestin a été divisé en 7 parties : différentes portions ont été étudiées (la 1^{ère}, la 3^{ème}, la 5^{ème} et la 7^{ème} partie).

Après l'éclosion, une diversification abondante du microbiote entre le 1^{er} et le 11^{ème} jour a été notée dans tous les segments de l'intestin suivie d'une stabilisation dans le jabot (Wielen et al., 2002).

Parmi toutes les régions de l'intestin, le duodénum possède le plus faible nombre de bactéries tandis que le cæcum héberge le plus grand nombre. Des techniques de biologie moléculaire ont montré la présence d'un grand nombre de lactobacilles dans l'iléon et les

cæca au 3^{ème} jour après l'éclosion. En plus des lactobacilles, les techniques de dénombrement des bactéries ont révélé la présence d'un grand nombre d'entérobactéries et d'entérocoques (Albazaz, 2014).

Après le 3^{ème} jour d'âge, le nombre des entérobactéries et des entérocoques commence à diminuer dans le cæcum probablement à cause de l'augmentation des acides gras volatiles ; acides butyrique, acétique et propionique (Apajalahti et al., 2004).

A partir de l'âge de 12 jours, le nombre total des bactéries aérobie facultatives et des anaérobies strictes est 10 à 15 fois plus grand que celui des aérobie strictes soit $1,6 \times 10^{11}$ /tissu sec. La plupart des bactéries anaérobies sont Gram positives (Rogel-Gaillard, 2014).

A l'âge de deux semaines, la concentration des acides gras et le nombre des entérobactéries et des entérocoques se stabilisent dans le cæcum. Dans ce dernier, 65% des séquences de l'ARNr correspondent aux *Clostridiaceae*, 14% à *Fusobacterium*, 8% à *Lactobacillus* et 5% aux *Bacteroides* (Albazaz, 2014).

Zhu et ses collaborateurs (2002) ont rapporté que les cæca des oiseaux matures recevant une alimentation commerciale standard sont principalement colonisés par *Clostridium leptum* (20%), *Clostridium coccoïdes* (27%), *Sporomusa* sp. (21%) et *Gamma protéobacteria* (20%). Les mêmes auteurs ont montré que les bactéries du genre *Atopobium*, *Bacteroides* et *Bifidocaterium* représentent 3,6%, 2% et 1% de la population bactérienne, respectivement.

Les lactobacilles, les streptocoques et *Escherichia coli* représentent 60 à 90% des bactéries de l'intestin des poussins de deux semaines. D'autres genres colonisent l'intestin grêle de ces poussins mais à des proportions plus faibles (*Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* et *Gemmiger*) (Albazaz, 2014).

II. 3. Facteurs de variation de la flore digestive

La flore digestive présente des variations entre les individus et dépend de leur âge, mais elle peut aussi être modifiée par de nombreux facteurs (figure 06) :

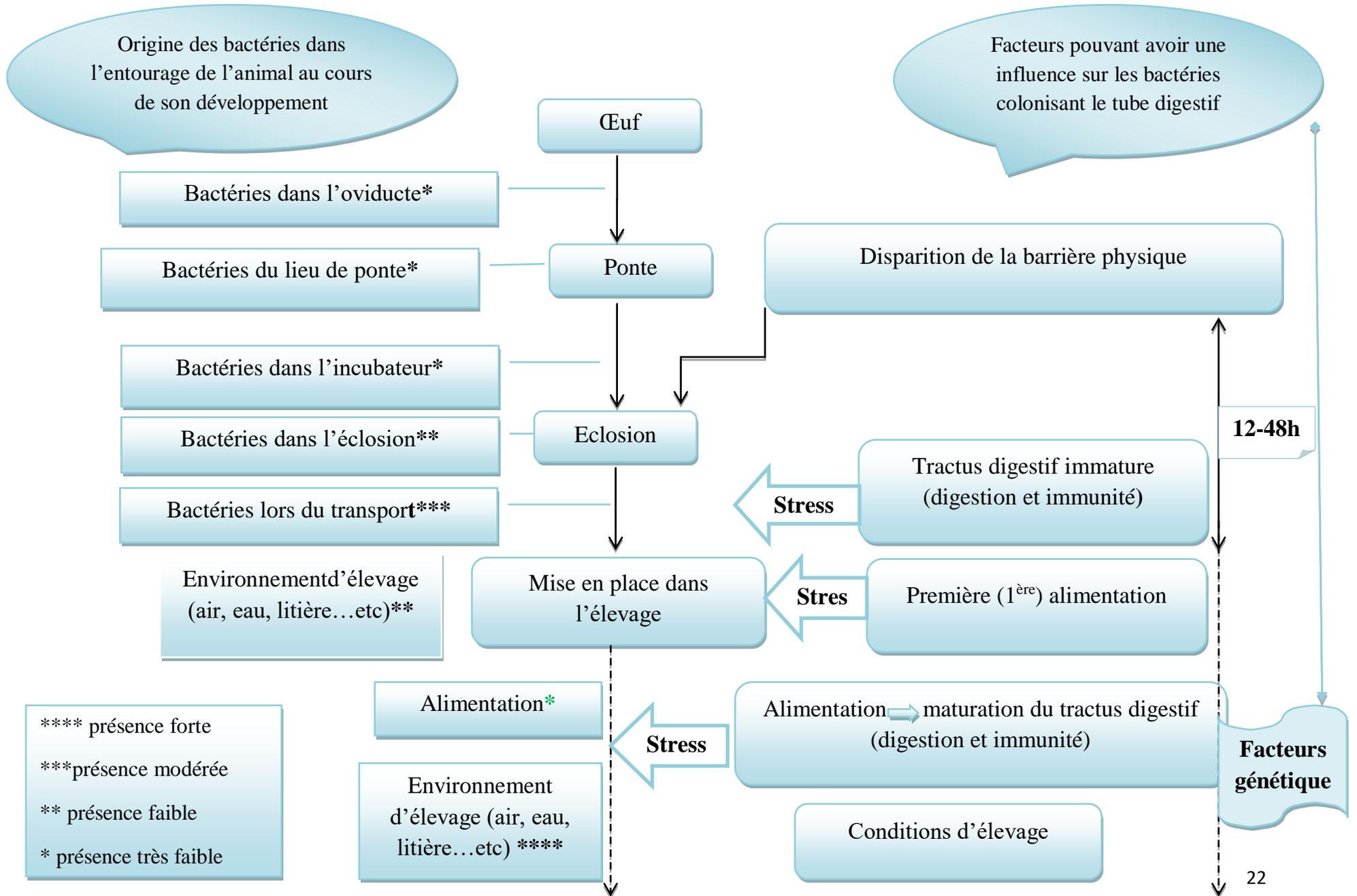


Figure 06. Origine des bactéries et les facteurs susceptibles d'influencer le microbiote digestif au cours de la vie du poulet de chair (Guardia, 2011)

II. 3. 1. Facteurs génétiques

La composition de la flore digestive peut être influencée par des facteurs génétiques comme il a été démontré chez l'homme en comparant la flore de jumeaux homozygotes qui présentait une similarité plus élevée par rapport à celle des jumeaux hétérozygotes ou des sujets non apparentés (**Stewart et al., 2005**).

La comparaison des souches congéniques pour le complexe majeur d'histocompatibilité a révélé que l'environnement génétique des différentes souches avait une influence sur la similarité interindividuelle du microbiote fécal (**Guardia, 2005**).

II. 3. 2. Souche et sexe

La flore digestive varie selon la souche et le sexe des animaux. Ainsi chaque individu présente une communauté bactérienne digestive qui lui est propre. Ceci suggère que des facteurs spécifiques de l'hôte interviennent dans l'établissement de la flore intestinale comme la présence de récepteurs spécifiques pour les bactéries, des systèmes de communication spécifiques avec les bactéries et les caractéristiques immunologiques des bactéries (**Zhu et al., 2002**).

II. 3. 3. Environnement

La flore varie selon le milieu d'élevage. En effet, des populations plus fortes sont observées chez des oiseaux élevés au sol par rapport aux oiseaux élevés en cages individuelles (**Mallet et al., 2001**).

L'augmentation de la densité d'élevage ou le stress thermique semblent augmenter les bactéries néfastes au détriment des bactéries bénéfiques. De plus, les parasites intestinaux comme les coccidies causent une dégradation de la muqueuse intestinale entraînant la production de nouveaux substrats pour la flore, ce qui conduit à une modification de celle-ci. Toutefois, la flore serait peu modifiée chez les animaux issus d'élevages conduits de façon semblable (**Apajalahti et al., 2001**).

II. 3. 4. Composition et structure des aliments

La composition de la flore digestive est fortement dépendante de l'alimentation puisque cette dernière est à l'origine du type de substrat disponible pour la croissance des micro-organismes. Les différents composants de l'aliment vont favoriser (facteurs de croissance) ou inhiber au contraire (agents antibactériens) la croissance des bactéries, ce qui modifie par conséquent la composition du microbiote digestif (**Gardia, 2011**).

De plus, la flore digestive peut être modifiée par le type de céréales, en particulier la présence de polysaccharides non amylacés hydrosolubles, ou par leur mode de présentation.

Ainsi, un régime à base de blé et d'orge au lieu de maïs entraîne une augmentation des lactobacilles et des coliformes (Mathlouthi et al., 2002).

La consommation d'un régime contenant du blé sous forme de graines entières entraîne une modification de la flore par rapport à du blé broyé (Gabriel et al., 2003).

La granulation de l'aliment entraîne une augmentation des coliformes et des entérocoques dans l'iléon, ainsi qu'une baisse de *Clostridium perfringens* et des lactobacilles dans les parties distales du tube digestif (cæca et rectum) (Apajalahti et al., 2001)..

Les minéraux et les vitamines peuvent aussi avoir un effet sur la flore. Ainsi, l'apport d'une double dose d'oligo-minéraux et de vitamines (1% au lieu de 0,5%) entraîne une augmentation des bifidobactéries. De même, une réduction des clostridies et des coliformes a été observée dans l'intestin grêle et les cæca de poulets recevant un supplément de cuivre associé à de la montmorillonite alors que la supplémentation de cuivre seul était sans effet (Gabriel et al., 2005).

Ces facteurs sont responsables des différences de microbiote observées entre des élevages dont les conditions de gestion varient. Ainsi, le microbiote digestif diffère entre des animaux élevés en conditions extensives, c'est-à-dire avec des souches à croissance lente et des animaux à croissance rapide élevés en confinement. De même, des animaux issus du même couvoir et consommant le même aliment peuvent aussi présenter des différences de flore en raison d'une gestion différente des élevages (Hooper et al., 2001).

II. 4. Impact de la flore sur la physiologie digestive

Les interactions entre la flore et la muqueuse digestive entraînent des modifications de la structure et du fonctionnement du tube digestif. En effet, des études réalisées sur un composant majeur de la flore intestinale commensale de l'homme et de la souris, *Bacteroides thetaiotaomicron*, ont montré que cette bactérie module l'expression de gènes impliqués dans des fonctions intestinales importantes telles que l'absorption des nutriments, le métabolisme des xénobiotiques, la fonction de barrière de l'épithélium, la maturation intestinale et l'angiogénèse. Les interactions entre le microbiote digestif et la muqueuse digestive sont à la fois symbiotiques et compétitives (Gabriel et al., 2005).

II. 4. 1. Modifications anatomiques et physiologiques du tractus digestif

L'adhérence des bactéries à la muqueuse intestinale et la production de différents métabolites entraînent des modifications anatomiques et physiologiques des cellules des muscles lisses et de la paroi intestinale. Ainsi l'augmentation de la longueur relative de l'intestin et l'épaississement de la paroi lié principalement à la *lamina propria* ont entraîné

l'augmentation du poids relatif de l'intestin grêle chez les animaux conventionnels en comparaison avec les animaux axéniques (**Apajalahti et al., 2001**).

Les villosités intestinales situées au niveau du jéjunum et l'iléon sont plus hautes et de forme moins régulière chez les oiseaux conventionnels par rapport aux oiseaux axéniques, mais l'aire développée par les microvillosités par unité de surface est plus faible. Tout au long de l'intestin grêle, les cryptes sont plus profondes et le nombre de cellules en division est plus élevé ce qui conduit par conséquent à un renouvellement cellulaire accéléré du duodénum distal à l'iléon (**Gabriel et al., 2005**).

Les entérocytes présentent une plus faible maturité et atteignent plus rapidement le haut des villosités. Ainsi, l'activité totale des enzymes intestinales telles que la maltase et la saccharase est moins élevée par gramme de tissus mais elle est similaire par poids d'animal. En revanche, la flore n'affecte pas l'activité des autres enzymes impliquées dans la digestion, telles que l'amylase, la lipase ou la trypsine pancréatique dans le contenu de l'intestin grêle. De même, l'absorption *in vivo* des nutriments tels que le glucose et la méthionine n'est pas modifiée (**Gabriel et al., 2003**).

En présence de micro-organismes, les cæca ont une paroi plus épaisse et un poids relatif élevé. Bien que les cæca soient les sites principaux de la flore intestinale, les données relatives aux modifications de leur muqueuse par la flore sont restreintes. L'introduction de lactose dans l'alimentation entraîne une augmentation de la flore ce qui engendre une augmentation de la prolifération cellulaire et une diminution de l'épaisseur de la *lamina propria*. Le temps de renouvellement cellulaire est dans la partie distale des cæca est plus court par rapport à la partie proximale, probablement en raison de la présence importante de la flore dans cette région (**Takeuchi et al., 1998**).

Chez les animaux conventionnels, les contenus digestifs sont généralement plus acides et le potentiel d'oxydoréduction est plus faible en comparaison avec les animaux axéniques (**Gabriel et al., 2005**).

II. 4. 2. Production et hydrolyse du mucus

La flore entraîne une production accrue de mucines et une modification des proportions des différents types de glycoprotéines qui les constituent. Ces modifications s'effectuent soit de façon directe par la libération locale de facteurs bioactifs ou indirectement par l'activation des cellules immunitaires de l'hôte. Par ailleurs, certaines bactéries utilisent ces mucines comme sources de carbone et d'énergie grâce à leurs activités glycosidiques (**Deplancke et Gaskins, 2001**).

II. 5. Impact de la flore digestive sur la valeur nutritionnelle de l'aliment**II. 5. 1. Impact sur la digestion des aliments**

Dans le tube digestif, il y'a une compétition entre les microorganismes et l'hôte pour l'utilisation des aliments présents. En effet, les bactéries produisent un très grand nombre d'enzymes et celles qui se trouvent dans la lumière intestinale utilisent souvent les aliments peu digestibles avant l'hôte.

La flore digestive aurait un effet positif en libérant des substances absorbables par l'hôte au niveau de l'intestin grêle et les cæca qui possèdent à leur tour des capacités de transport des acides aminés et des glucides (Chouder, 2006).

II. 5. 1. 1. Digestion des glucides

Les bactéries du tube digestif sont capables d'utiliser les glucides digestibles par l'hôte (dextrines, oligosaccharides et monosaccharides), non digestibles tels que les polysaccharides non amyliques (cellulose, hémicellulose, substances pectiques) ainsi que les glucides nécessitant une interaction hôte- microorganisme comme l'amidon (Guardia, 2011).

Chez le poulet, les lactobacilles jouent un rôle important dans la digestion de l'amidon en produisant des amylases dans le jabot car l'amylase endogène de l'hôte ne peut pas assurer cette fonction toute seule. En ce qui concerne les glucides non digestibles, ils sont fermentés principalement par la flore caecale (Tannock, 1989).

II. 5. 1. 2. Digestion des lipides

La flore digestive a un effet négatif sur la digestibilité des lipides par l'hôte à cause de la déconjugaison des sels biliaires par certaines bactéries en particulier les lactobacilles. Cette déconjugaison diminue la solubilisation des lipides, contenant particulièrement des acides gras saturés à longue chaîne, et réduit par conséquent leur absorption (Gabriel et al., 2005).

II. 5. 1. 3. Digestion des protéines

La digestion des protéines par la flore commensale est variable, probablement en fonction de la composition des aliments. Les protéines de mauvaise qualité, non altérés par la chaleur et peu digestibles par l'hôte sont bien hydrolysées par la flore digestive. L'effet de cette dernière est faible dans le cas d'une alimentation riche en protéines très digestibles. Par ailleurs, la flore peut utiliser aussi les protéines endogènes dérivant du mucus, des débris cellulaires et les protéines de la biomasse microbienne (Chouder, 2006).

II. 5. 2. Impact sur le métabolisme

La flore digestive affecte le métabolisme global de l'animal en produisant des métabolites qui peuvent être bénéfiques ou néfastes pour l'hôte.

II. 5. 2. 1. Métabolisme azoté

La flore digestive peut avoir un effet favorable sur le métabolisme azoté de l'hôte. En effet, certaines bactéries présentes dans les cæca dégradent les composés azotés d'origine alimentaire et urinaire en particulier l'acide urique en ammoniac dont une partie sera utilisée par l'hôte pour la synthèse de protéines ou de glucose et une autre partie sera utilisée par d'autres bactéries comme source d'azote (**Guardia, 2011**).

Toutefois, les bactéries du tube digestif représentent un coût élevé pour l'animal en termes de besoins protéiques étant donné que la synthèse des protéines augmente de 25 % au niveau du foie et de 45 % au niveau de l'intestin chez les poulets conventionnels par rapport aux poulets axéniques (**Gabriel et al., 2005**).

II. 5. 2. 2. Métabolisme énergétique

Le microbiote digestif peut avoir en fonction du régime alimentaire un effet négatif ou positif sur le métabolisme énergétique de l'animal. Le premier se traduit par l'augmentation des besoins énergétiques de l'hôte en raison de la diminution de la digestibilité des lipides, l'augmentation des pertes liées à la fermentation des glucides et l'augmentation des pertes endogènes (**Apajalahti et al., 2001**).

L'effet bénéfique par contre est lié à la production des acides gras volatils issus de la fermentation des polysaccharides non amylacés. Ces AGV notamment l'acide acétique, l'acide butyrique et l'acide propionique constituent une source potentielle d'énergie métabolisable pour le poulet après leur absorption en particulier au niveau des cæca (**Jozefiak et al., 2004**).

II. 5. 2. 3. Métabolisme minéral et vitaminique

La flore digestive affecte également le métabolisme des minéraux et des vitamines. En effet, elle réduit l'absorption ou le transport du calcium au niveau de l'intestin, réduit aussi l'absorption du manganèse et facilite l'absorption du sodium au niveau du colon et du cæcum. Parallèlement, les microorganismes du tube digestif entraînent la synthèse de certaines vitamines telles que l'acide folique (**Gabriel et al., 2005**).

II. 5. 2. 4. Métabolisme des composés phénoliques

Le microbiote caecal des poulets assure la transformation d'une fraction des composés phénoliques apportés par l'alimentation en composés intermédiaires à savoir les lactones ou acides phénoliques qui présentent des propriétés biologiques différentes de celles des produits d'origine notamment une activité antioxydante plus importante (**Guardia, 2011**).

II. 6. Impact de la flore sur la santé de l'hôte

II. 6. 1. Protection contre les micro-organismes néfastes

Les premières populations bactériennes implantées dans le tube digestif exercent un effet dit «barrière» en s'opposant à l'installation d'une seconde flore avant la maturité complète du système immunitaire du tube digestif (**Fuller, 2000**).

Ainsi, la colonisation des cæca par les salmonelles a été inhibée en traitant des poussins par la flore cæcale de poulets adultes sains juste après leur éclosion. En outre, l'implantation des bactéries pathogènes dans le tube digestif est inhibée par les bactéries commensales dont certaines espèces de *Lactobacillus* qui s'opposent au développement de certains pathovars d'*Escherichia coli* (**Gabriel et al., 2005**).

La flore lactique exerce cet effet barrière soit par la production de certaines substances antibactériennes comme les bactériocines, les acides gras à chaîne courte ou les dérivés toxiques de l'oxygène, soit par la modification des récepteurs des bactéries pathogènes ou de leurs toxines, soit encore par l'utilisation compétitive de nutriments nécessaires à la croissance des bactéries pathogènes (**Gabriel et al., 2005**).

II. 6. 2. Stimulation du système immunitaire

Le microbiote intestinal participe au maintien et au développement du système immunitaire intestinal en influençant le nombre et la distribution des populations cellulaires permettant ainsi la régulation de la réponse immunitaire locale (**Chouder, 2006**).

La flore constitue une source majeure de *stimuli* antigéniques assurant la maturation des cellules lymphoïdes situées au niveau des plaques de Peyer qui constituent le site privilégié d'interactions de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et des lymphocytes. En effet, les microorganismes atteignent facilement le sommet de ces organes lymphoïdes secondaires en raison du nombre réduit des cellules sécrétrices de mucus d'une part et la présence de cellules M qui assurent le transport efficace des antigènes solubles vers les tissus lymphoïdes sous-jacents (**Muir et al., 2000**).

Après contact avec un antigène étranger et sous stimulation par les micro-organismes de la flore digestive, les cellules dendritiques assurant le rôle de cellules présentatrices d'antigènes migrent vers les plaques de Peyer pour activer les lymphocytes précurseurs présents à ce niveau et déclencher une réponse immunitaire spécifique caractérisée par la production de médiateurs de l'inflammation notamment des cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines qui vont entraîner l'activation et le recrutement des lymphocytes cytotoxiques et activer la

différenciation des plasmocytes producteurs d'immunoglobulines sécrétoires de type IgA afin d'empêcher la fixation des pathogènes sur la muqueuse intestinale (**Macpherson et al., 2000**).

Certaines bactéries stimulent l'immunité non spécifique en activant les macrophages qui vont assurer la phagocytose et la synthèse de cytokines (**Moreau et Gaboriau-Routhiau, 2000**).

En dépit de la régulation de la réponse inflammatoire, les cytokines peuvent avoir des effets délétères chez l'hôte en modifiant son métabolisme. Ainsi, ces molécules entraînent l'augmentation du catabolisme protéique et la réduction de la masse musculaire en détournant les acides aminés des muscles et de l'alimentation vers la synthèse des protéines de la phase aigüe et la néoglucogenèse au niveau du foie (**Klasing et al., 1991**).

De plus, les cytokines entraînent une hyperlipidémie et perturbent le métabolisme minéral. Par ailleurs, l'activation permanente du système immunitaire par le microbiote digestif conduit à des dépenses énergétiques élevées défavorables à la croissance de l'animal (**Chouder, 2006**).

II. 7. Contrôle de la flore

La flore intestinale joue un rôle important dans la vie de l'animal en raison des effets bénéfiques qu'elle apporte notamment le développement du système immunitaire et l'effet barrière. En revanche, ses effets négatifs ne sont pas négligeables en particulier le coût métabolique élevé induit par l'activation permanente du système de défense et par le développement important de l'intestin (**Goddeeris et al., 2002**).

Afin d'optimiser les performances de croissance des animaux, il est impératif d'avoir un tube digestif en bonne santé. Or, la santé digestive dépend essentiellement sur la préservation de l'équilibre du microbiote intestinal, ce qui nécessite l'application de mesures hygiéniques et sanitaires draconiennes tant sur le plan de gestion des élevages qu'au niveau de l'alimentation (**Gabriel et al., 2005**, Figure 07).

Dans le premier cas, le développement de la flore néfaste peut être limité en gérant mieux les élevages par un bon aménagement des bâtiments et par l'application du vide sanitaire. Sur le plan nutritionnel, l'hygiène doit être contrôlée tout au long de la chaîne de fabrication de l'aliment c'est-à-dire de la réception de la matière première jusqu'à la livraison de l'aliment et ce en vue de limiter l'apport de flores exogènes. Par ailleurs, l'addition des acides organiques et la granulation de l'aliment permettent de réduire la charge bactérienne (**Gabriel et al., 2005**).

Ainsi, la digestibilité peut être améliorée en limitant les substrats disponibles pour la flore soit par des traitements technologiques appropriés, soit en équilibrant au mieux les

formules alimentaires avec des acides aminés de synthèse pour satisfaire les besoins de l'animal ou par l'ajout des enzymes qui hydrolysent les composants alimentaires et les rendent plus facilement disponibles pour l'hôte (**Gabriel et al., 2003**).

D'une manière générale, la flore digestive peut être modifiée en utilisant des prébiotiques et des probiotiques comme alternatives aux antibiotiques facteurs de croissance. Cependant, les effets obtenus en utilisant ces additives sont très variables et peuvent être bénéfiques ou néfastes pour l'hôte ou au contraire, la modification de la flore peut ne pas affecter les performances de l'animal. Les résultats dépendent de très nombreux facteurs tels que les souches bactériennes du probiotique, la quantité utilisée des additifs (extraits de plantes, prébiotiques, enzymes...), la qualité de l'aliment, les animaux cibles (espèce, souche, âge) et les conditions d'élevage (**Gabriel et al., 2005**).

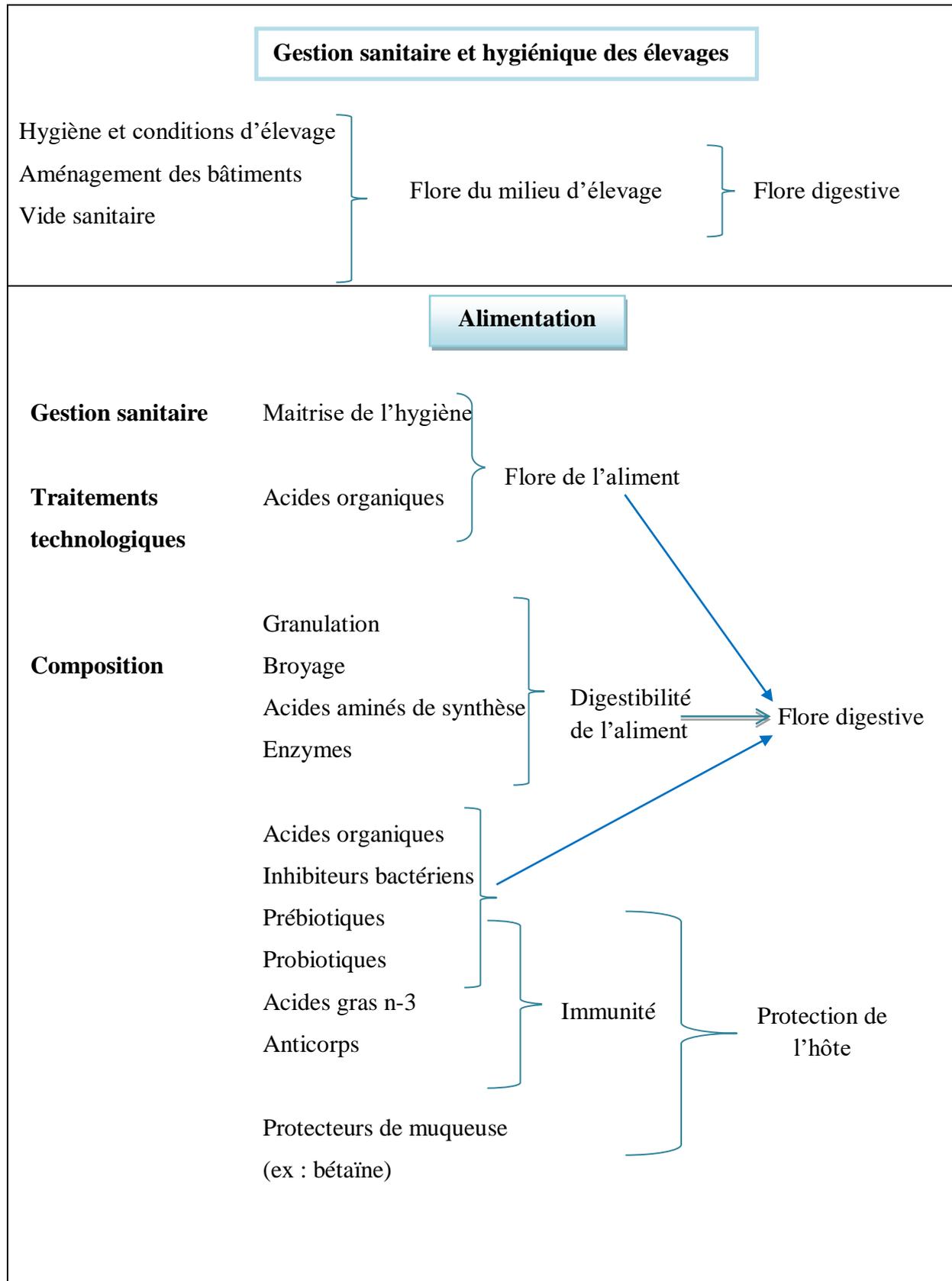


Figure 07. Modalités de contrôle de la flore digestive (d'après Gabriel et al., 2005).

CHAPITRE III :

Les additifs en alimentation animale



III. 1. Définition

Un additif alimentaire peut être défini comme une substance chimique d'origine naturelle ou synthétique, un microorganisme ou une préparation enzymatique qui est ajouté en faible quantité à un aliment dans le but de modifier ou améliorer ses propriétés technologiques, ou augmenter son efficacité zootechnique (**Chafai, 2006**).

L'utilisation des additifs alimentaires est généralement soumise à des restrictions réglementaires. L'union européenne avait établi une réglementation européenne commune depuis 1970 qui défend les intérêts du fabricant, de l'éleveur et du consommateur. En effet, un additif ne peut être autorisé qu'après avoir démontré une innocuité, une stabilité et une efficacité. Chaque autorisation d'additif prévoit des conditions précises d'utilisation et fixe l'espèce cible, l'âge maximal des animaux et les doses d'incorporation dans l'aliment (**Chafai, 2006**).

III. 2. Classification

Les additifs alimentaires sont classés selon leurs effets en trois catégories :

III. 2. 1. Additifs nutritionnels

Ils contribuent à adapter au mieux la composition des rations aux besoins nutritionnels des animaux. Il s'agit des acides aminés, les composés azotés non protéiques, les minéraux et les vitamines (**Jean-Blain, 2002; Carrière et Roinsard, 2015**).

III. 2. 2. Additifs technologiques

Ils contribuent soit à améliorer la qualité des aliments en facilitant leur fabrication, leur conservation et leur présentation, soit à augmenter la digestibilité de certains constituants (**Chafai, 2006**).

III. 2. 3. Additifs zootechniques

Ils activent la croissance des animaux (promoteurs de croissance) ou ils ont un rôle prophylactique sur les animaux ou leurs produits (**Chafai, 2006**).

Les principaux types d'additifs utilisés en alimentation animale sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 04. Principaux additifs utilisés en alimentation animale (d'après Jean-Blain, cité par Chafai, 2006)

Additifs zootechniques	
Nutriments	Acides aminés, oligoéléments, vitamines
Facteurs de croissance	Antibiotiques, prébiotiques, probiotiques
Facteurs de prévention des maladies parasitaires	Coccidiostatiques et histomonostatiques
Additifs technologiques	
Colorants	Colorants sensu stricto et pigments caroténoïdes
Conservateurs	Antibacériens, antifongiques et antioxydants
Modificateurs de la digestibilité des enzymes	
Modificateurs des propriétés physiques de l'aliment	Emulsifiants, gélifiants, stabilisants, antimottants, épaississants
Additifs sensoriels	
Substances aromatiques et apéritives	Substances naturelles et analogues synthétiques

III. 2. 3. 1. Additifs antibiotiques

L'usage vétérinaire des antibiotiques s'est répandu parallèlement à l'antibiothérapie humaine depuis les années 50 (Ferrando, 1991).

Chez les animaux d'élevage, les antibiotiques sont utilisés à titre curatif, à titre préventif, en métaphysaire et comme additifs alimentaires (White et McDermott, 2001).

a. Utilisation à titre curatif

L'antibiothérapie vise à traiter une infection déclarée chez l'animal afin de limiter sa souffrance et d'éviter la mortalité et, pour les animaux de rente, de rétablir les niveaux de production (œuf, lait et viande).

En élevage avicole, l'antibiothérapie curative est presque constamment métaphylactique, elle consiste à administrer des antibiotiques à l'ensemble des animaux d'un lot lorsqu'une partie des sujets sont malades et que l'agent pathogène suspecté est connu comme infectieux (Sanders, 2005).

b. Utilisation à titre préventif

L'antibio-prophylaxie est mise en œuvre durant certaines périodes dites de risque, lorsque la probabilité de développement d'une infection est élevée (période de démarrage chez la volaille), lorsque les conditions générales d'hygiène sont médiocres ou, dans les cas où les réactions post-vaccinales sont relativement sévères. Cependant, l'antibiothérapie préventive s'est révélée dangereuse à cause de la résistance bactérienne qu'elle entraîne. Elle est mise en œuvre pour masquer les défauts de l'élevage, et ne peut en aucun cas être systématiquement envisagée (AFSSA, 2006).

c. Utilisation en métaphylaxie

Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une ou plusieurs bactéries, l'ensemble du groupe d'animaux est traité.

Les sujets qui sont exposés mais ne présentant pas encore de signes cliniques (sains ou en incubation) font donc l'objet d'un traitement en même temps que ceux qui sont déjà malades. Cette pratique est qualifiée de métaphylaxie. Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes (Dosso, 2014).

d. Utilisation en tant que facteurs de croissance

L'effet promoteur de croissance des antibiotiques a été observé pour la première fois par Moore et ses collaborateurs (1946) sur des poulets traités par des sulfamides et de la streptomycine. En 1951, l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments approuva l'utilisation des antibiotiques comme additifs alimentaires sans prescription vétérinaire (Jones et Ricke, 2003).

A partir des années 1950 et 1960, l'utilisation des antibiotiques comme promoteurs de croissance en production animale est devenue courante en Europe surtout dans les élevages intensifs (Dosso, 2014).

III. 2. 3. 1. 1. Mode d'action

Selon l'Office National de Santé Vétérinaire de Londres, les AFCs ne sont pas utilisés chez les animaux en cours de croissance pour stimuler l'appétit mais ils sont utilisés pour stimuler la digestion des aliments de façon plus efficace, aider les animaux à en tirer le maximum de bénéfices ce qui leur permet de rester en pleine santé.

Le mode d'action des antibiotiques comme facteurs de croissance reste encore mal connu. Selon l'hypothèse de Samanidou et Evaggelopoulou (2008), les AFCs agissent sur le microbiote digestif en affectant l'activité métabolique de certains microorganismes ou en

modifiant l'équilibre de l'écosystème intestinal. Cette hypothèse repose sur l'effet négatif direct ou indirect de la microflore intestinale sur la croissance animale et sur les propriétés antibactériennes des AFCs. D'autres hypothèses ont été proposées pour expliquer le mécanisme d'action des AFCs et les cinq principales hypothèses sont :

III. 2. 3. 1. 1. 1. Diminution de la prévalence des infections endémiques sub-cliniques

Les AFCs inhibent les infections endémiques sub-cliniques, ce qui permet de réduire les coûts métaboliques du système immunitaire. En effet, ces antibiotiques promoteurs de croissance inhibent la multiplication intestinale de certaines bactéries pathogènes qui ne provoquent pas forcément de maladies apparentes mais entraînent simplement un ralentissement de la croissance. Ainsi, **Fuller et ses collaborateurs (1984)** ont montré que la supplémentation alimentaire par la pénicilline inhibe la dépression de croissance transitoire provoquée par *Streptococcus faecium* chez le poulet. D'autre part, il a été démontré que les AFCs sont plus efficaces chez les animaux élevés dans des mauvaises conditions d'hygiène. Ainsi, il est établi que la croissance des poulets est meilleure dans un bâtiment d'élevage neuf ou très propre que dans un bâtiment ancien non nettoyé et donc source d'infections mais dans ce dernier, l'administration des antibiotiques à faible dose rétablit la croissance optimale des poulets (**Niewold, 2007**).

En outre, ces additifs antibiotiques utilisés même aux faibles doses (20-60ppm) peuvent aussi contrôler de réelles pathologies intestinales. Ainsi, la multiplication de *Clostridium perfringens* responsable de l'entérite nécrosante chez la volaille est réprimée par la pénicilline à faible dose, l'avoparcine, l'avilamycine et le monensine. Cependant, l'hypothèse d'un effet direct des AFCs sur la microflore n'est pas admise par certains auteurs qui pensent que les antibiotiques promoteurs de croissance ne peuvent pas inhiber les infections sub-cliniques puisqu'ils sont utilisés à des concentrations inférieures aux concentrations minimales inhibitrices (**Corpet, 2000**).

III. 2. 3. 1. 1. 2. Réduction de la production des métabolites toxiques

Les AFCs diminuent la production microbienne de métabolites toxiques tels que l'ammoniaque ; toxique pour les cellules de la muqueuse et pour l'organisme ; ce qui conduit par conséquent à une épargne énergétique car le cycle de détoxification de l'ammoniaque sous forme d'urée par le foie est coûteux en énergie. Les études effectuées *in vitro* et *in vivo* par **Visek (1978)** ont montré que les antibiotiques à faible dose inhibent fortement les uréases bactériennes et donc le catabolisme de l'urée (**Niewold, 2007**).

De plus, les ATB à faible dose inhibent également le catabolisme des acides aminés par les bactéries. Il a été observé que les ATB les plus efficaces pour inhiber le catabolisme de l'arginine par le contenu caecal de porc étaient les plus efficaces sur les performances zootechniques du porc (**Corpet, 2000**).

III. 2. 3. 1. 1. 3. Augmentation de la disponibilité des nutriments pour l'hôte

Les AFCs réduisent l'utilisation microbienne des nutriments rendant ainsi une proportion plus importante disponible pour l'animal. Chez les porcs, la fermentation microbienne intestinale entraîne une perte de 6% de l'énergie nette et l'utilisation des AFCs diminue le processus de fermentation et augmente la disponibilité de l'énergie pour l'animal. De plus, les ATB à faible dose peuvent aussi inhiber la fermentation des glucides au niveau de l'intestin, particulièrement la production d'acide lactique à partir du glucose augmentant ainsi la quantité de glucose disponible pour l'animal (**Mohamed Said, 2015**).

Enfin, la diminution des concentrations intestinales d'ammonique et d'amines réduit le taux de renouvellement de l'épithélium intestinal. Cette faible prolifération épargne les nutriments indispensables à la synthèse des protéines, des lipides membranaires et des acides nucléiques des cellules intestinales desquamées (**Vissek, 1978**).

III. 2. 3. 1. 1. 4. Amélioration de l'absorption intestinale

Les AFCs améliorent l'absorption des nutriments chez les animaux. Ceci serait dû à l'augmentation de la surface d'absorption intestinale, à la diminution de l'épaisseur de la muqueuse et à la diminution de la vitesse du transit digestif.

Les changements d'épaisseur résultent principalement de la diminution de la prolifération de la muqueuse. Par contre, le ralentissement du transit digestif serait lié à la diminution de la concentration de l'acide lactique dans le contenu intestinal (**Corpet, 2000**).

III. 2. 3. 1. 1. 5. Inhibition de la réponse inflammatoire

Selon **Niewold (2007)**, les AFCs n'agissent pas sur la microflore et leur action n'est pas liée à leurs propriétés antibactériennes. En effet, les antibiotiques n'ont pas tous un effet promoteur de croissance alors qu'ils devraient tous avoir un effet sur le microbiote intestinal. De plus, en dépit de leur action ciblée sur un type précis de microorganismes, différents antibiotiques possèdent tous le même effet de promotion de croissance. Enfin, certains antibiotiques sont utilisés chez une grande variété d'espèces animales avec des microflores intestinales différentes mais leur effet est similaire chez tous les animaux.

L'hypothèse de Niewold repose sur un effet anti-inflammatoire des antibiotiques. Les AFCs ont la capacité de s'accumuler dans les cellules inflammatoires et leurs concentrations sont 10 à 100 fois supérieures à celles observées dans la lumière intestinale, entraînant par

conséquent une diminution du nombre de cellules inflammatoires dans la muqueuse intestinale. Cet effet est à l'origine de la réduction de l'épaisseur de la paroi intestinale et du ralentissement du catabolisme musculaire permettant alors une meilleure utilisation de l'énergie fournie par les aliments. La modification de la flore intestinale observée lors de l'utilisation des AFCs est donc une conséquence de l'altération du statut immunitaire des animaux et non un effet direct des AFCs. Cette hypothèse reste cependant beaucoup moins confirmée par la communauté scientifique que celle impliquant le microbiote intestinal (Cervantes, 2007).

III. 2. 3. 1. 2. Conséquences de l'utilisation des antibiotiques facteurs de croissance

Il est incontestable que les AFCs ont contribué au développement des élevages industriels tant sur le plan sanitaire que sur le plan économique mais une conséquence inquiétante de leur utilisation est apparue depuis les années 1950. En effet, plusieurs additifs antibiotiques sont identiques aux antibiotiques utilisés en médecine humaine tels que les β -lactamines, les tétracyclines, les macrolides, les sulfamides, les quinolones et les lincosamides (Mohammed Saïd, 2015).

D'une manière générale, l'utilisation des antibiotiques en thérapeutique, prophylaxie ou en tant qu'additifs alimentaires a conduit à l'émergence du phénomène de l'antibiorésistance et à la sélection des souches bactériennes résistantes quel que soit l'antibiotique utilisé et quels que soient le mécanisme biochimique et le support génétique de la résistance. Bien que les additifs antibiotiques aient un pouvoir sélectionnant faible en comparaison avec certains antibiotiques utilisés en thérapeutique, il est établi que le risque de développement de la résistance sera d'autant plus important que l'usage sera fréquent. Le transfert de ces résistances des bactéries commensales ou des bactéries pathogènes constitue un problème de santé public majeur (Chafai, 2006).

La résistance bactérienne induite par les AFCs a été rapportée pour les macrolides (tylosine et spiramycine), la virginamycine, l'avilamycine et la bacitracine (Aarestrup et al., 2000). Ainsi, il a été démontré que l'utilisation de l'avopracine dans les élevages de porcs et de poulets était à l'origine de l'apparition de souches d'*Enterococcus faecium* glycolipide résistants (GREF). Ces dernières, par contre, n'étaient pas présentes dans les élevages n'utilisant pas cet antibiotique, ce qui a montré que l'utilisation de l'avopracine en tant qu'additif alimentaire entraîne la création d'un réservoir de GREF dans les élevages.

De plus, la présence des GREF dans les dans la viande de porc et les carcasses de volailles ont démontré la possibilité de contamination de viandes destinées à l'alimentation humaine (Kruse et al., 1999).

III. 2. 3. 1. 3. Règlements et bannissement des AFC

Bien que la relation entre la résistance bactérienne et l'utilisation de promoteurs de croissance antibiotiques chez la volaille ait été rapportée pour la première fois en 1958 par Barnes puis par Elliot et Barnes en 1959, ce n'est qu'après une décennie (en 1969) que la prise de conscience de l'impact du transfert de résistances aux souches bactériennes d'origine humaine a eu lieu grâce au rapport de Swann au parlement britannique. Ce rapport proposait des recommandations pour l'usage des additifs antibiotiques dans le but de limiter les risques pour l'homme. L'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance a été limitée aux antibiotiques peu ou non appliqués en thérapeutique humaine et animale, n'interférant pas l'efficacité des médicaments thérapeutiques à travers le développement de souches résistantes et ayant un impact économique significatif dans les élevages (**Butaye et al., 2003**).

L'union européenne avait repris ces critères pour les protocoles d'obtention des autorisations de commercialisation des AFCs. En effet, seuls les antibiotiques ayant un spectre d'activité envers les bactéries Gram+ étaient autorisés depuis 1970. A ce moment, aucun additif antibiotique n'a été interdit car le transfert des bactéries résistantes à l'homme n'était pas démontré (**Mohamed Said, 2015**).

III. 2. 3. 1. 4. Conséquences de l'interdiction de l'utilisation des AFCs

Le bannissement des antibiotiques facteurs de croissance a entraîné un accroissement de l'utilisation des antibiotiques à usage thérapeutique en raison de l'augmentation de la fréquence des infections chez l'animal mais a tout de même favorisé la diminution de l'usage global. La communauté scientifique avait résumé les conséquences de cette interdiction en deux :

III. 2. 3. 1. 4. 1. Conséquences sur la résistance bactérienne

L'interdiction de plusieurs antibiotiques d'utilisation courante en alimentation animale avait pour principal objectif de réduire le risque de transfert des souches résistantes à l'homme en diminuant la quantité d'antibiotiques utilisés. En effet, une diminution de la résistance à la tétracycline a été constatée chez les souches d'origine animale suite l'interdiction de cet antibiotique en Europe dans les années 1970. Une réduction du nombre des entérocoques résistants à l'evernimycine, aux glycolipides et aux macrolides a été constatée après l'interdiction de l'avoparcine, de la virginamycine, de la tylosine et de la spiramycine (**Aarestrup et al., 2001**).

III. 2. 3. 1. 4. 2. Conséquences sur les performances et la santé des animaux

L'interdiction des additifs antibiotiques a entraîné un préjudice à la production et à la santé animale notamment dans les élevages avicoles. Au Danemark, le bannissement des AFCs avait augmenté la fréquence des infections dermiques et podales dans l'industrie avicole à la fin des années 1990 ainsi qu'une augmentation des maladies associées à des infections entériques (**Peterson, 2002**).

Une baisse de la prise de poids et une recrudescence de la mortalité des porcs et porcelets ont également été observés au Danemark et en Espagne après l'interdiction des AFCs. Des solutions de remplacement des AFCs sont donc nécessaires afin de permettre aux éleveurs de retrouver les performances de croissance de leurs animaux tout en limitant les pathologies gastro-intestinales dont la fréquence s'est accrue depuis l'interdiction des AFCs (**Mohamed said, 2015**).

III. 3. Alternatives aux antibiotiques

Après l'interdiction de l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale et dans l'optique de préserver la santé de la filière avicole et de maintenir le niveau de productivité, Les industriels de l'alimentation des volailles se sont efforcés de rechercher des alternatives à ces molécules, désormais bannies de la liste des additifs pour les animaux d'élevage. Cependant, ces alternatives doivent à la fois améliorer les performances zootechniques et garantir une bonne sécurité alimentaire (**Chafai, 2006**).

D'autres mesures générales sont envisageables en termes de gestion des élevages notamment sur les plans hygiénique et nutritionnel. Ainsi, l'hygiène des élevages peut être contrôlée en limitant le développement des bactéries néfastes à travers l'aménagement des bâtiments et l'application du vide sanitaire (**Doyle, 2001; Barton, 1998**).

Sur le plan nutritionnel, de nombreuses solutions ont été proposées. En effet, en vue de limiter l'apport de flores exogènes, il est nécessaire de stériliser l'aliment ou de contrôler l'hygiène tout au long de la chaîne de fabrication depuis la réception de la matière première jusqu'à la livraison de l'aliment. D'autres traitements technologiques appropriés peuvent être utilisés pour augmenter la digestibilité de l'aliment (**Gabriel et al., 2005**).

La digestibilité des aliments peut aussi être améliorée en équilibrant au mieux les formules alimentaires avec des acides aminés de synthèse ou par certaines enzymes. Ces dernières peuvent soit hydrolyser les composants alimentaires les rendant ainsi plus facilement disponibles, soit hydrolyser les composants peu digestibles utilisés comme substrats par la microflore (**Gabriel et al., 2005**).

Par ailleurs, la microflore ou ses actions peuvent être contrôlées en utilisant par exemple des acides organiques ayant un effet toxique sur les bactéries ou en bloquant l'activité des enzymes bactériennes néfastes à l'hôte par des inhibiteurs (**Gabriel et al., 2005; Chafai, 2006**). Ainsi, il serait possible de modifier la microflore à l'aide des prébiotiques ou des probiotiques (**Apajalahti et Bedford, 2000**).

III. 3. 1. Acides organiques

Les acides organiques sont dotés d'un pouvoir bactéricide puissant notamment contre les salmonelles et d'autres pathogènes intestinaux (**Chafai, 2006, Mohamed said, 2015**). Sous leur forme non dissociée, ces acides ont la capacité de diffuser passivement à travers la paroi bactérienne puis se dissocient à un pH supérieur à leur constante de dissociation (pKa) et provoquent une baisse du pH interne (**Choct, 2001; Moran, 2005**). Ceci induit chez certaines bactéries ne tolérant pas un gradient de pH transmembranaire important un stress cellulaire et conduit à l'expulsion des protons H⁺ vers l'extérieur sous l'action d'une pompe à ATP, ce qui consomme de l'énergie et épuise la bactérie (**Chafai, 2006**).

L'apport des acides organiques dans l'alimentation entraînent aussi l'abaissement du pH du contenu digestif induisant par conséquent l'activation des enzymes protéolytiques, la stimulation de l'appétit, l'amélioration des performances zootechniques et la régression des troubles digestifs (**Choct, 2001 ; Mohammed said, 2015**). Ainsi une amélioration de la conversion alimentaire de 8% a été observée chez les poulets recevant une alimentation supplémentée avec l'acide butyrique à 0,4% (**Leeson et al., 2005**).

III. 3. 2. Enzymes

Les enzymes sont des substances protéiques produites industriellement à partir de bactéries ou de champignons. Leur incorporation dans l'aliment permet d'améliorer la digestibilité de certains composés, en particulier les polysaccharides non amylacés qui diminuent la digestibilité de l'aliment en augmentant la viscosité du contenu digestif (**Grajek et al., 2005**)

L'utilisation des enzymes digestives en tant qu'additifs alimentaires dans l'alimentation des volailles permet d'améliorer la digestibilité et la biodisponibilité de certains nutriments. Parmi ces enzymes, on distingue :

III. 3. 2. 1. Phytases

Ce sont des enzymes d'origine fongique hydrolysant l'acide phytique qui est la principale forme du phosphore dans les grains. Le phosphore phytique est très peu assimilable par les monogastriques du fait de l'absence de phytases bactériennes dans le contenu digestif. Les phytases sont utilisés dans un but écologique. En effet, l'emploi des phytases permet

d'augmenter l'utilisation du phosphore des céréales, de diminuer l'incorporation de phosphate minéral dans les aliments et de réduire l'élimination du phosphore dans les lisiers et les fientes (Doyle, 2001).

III. 3. 2. 2. β -glucanases et xylanases et cellulases

Ce sont des enzymes qui dégradent les polymères des parois végétales. Tous les grains, principalement l'orge et le blé, contiennent un taux élevé (5.7 à 8.9 %) des arabinoxylanes ; hémicelluloses qui limitent la digestibilité des céréales chez les volailles.

De plus, les céréales ont la capacité de retenir l'eau et former des gels, ce qui entraîne chez les volailles la formation de fientes collantes et augmente la teneur en eau des litières, avec, secondairement, une augmentation de la production d'œufs sales chez les pondeuses et une augmentation des atteintes podales ou des lésions du bréchet chez le poulet de chair.

L'utilisation simultanée, dans la même préparation, de β -glucanases et de xylanases d'origine fongique permet d'améliorer la digestibilité de 2 à 4% et d'augmenter l'énergie métabolisable des régimes à base de blé et d'orge et de neutraliser les effets indésirables qu'ils induisent sur les fientes chez les volailles. Ces enzymes permettent donc d'augmenter la valeur nutritionnelle de l'orge et du blé.

Les cellulases sont des enzymes produites aussi à partir de champignons. Elles ont un effet complémentaire des enzymes précitées car elles permettent d'améliorer la digestibilité des céréales et des tourteaux riches en glucides pariétaux (Chafai, 2006).

III. 3. 3. Prébiotiques

Le terme de prébiotique désigne un ingrédient alimentaire non digestible qui exerce un effet bénéfique sur la santé de l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et ou l'activité métabolique d'un nombre limité de bactéries bénéfiques (bifidobactéries et Lactobacilles, particulièrement) (Gibson et Roberfroid, 1995).

Un ingrédient alimentaire est classé comme prébiotique s'il répond aux trois critères suivants :

1. Ne pas être hydrolysé ou absorbé dans la partie supérieure du tube digestif.
2. Etre sélectif d'un nombre limité de bactéries commensales bénéfiques dont la croissance est stimulée et / ou le métabolisme activé.
3. Améliorer la composition de la flore intestinale.

Les prébiotiques les plus utilisés actuellement sont les oligosaccharides et les gommés (Delzenne, 2003). Les principaux oligosaccharides utilisés comme prébiotiques sont les fructo-oligosaccharides (FOS), les mannan-oligosaccharides (MOS), les gluco-oligosaccharides (GOS) et les galacto-oligosaccharides (GAS).

Selon **Piva et Rossi (1999)**, l'incorporation de ces oligomères d'hexoses dans l'alimentation à de faibles concentrations (0,1 à 0,3 %) permet d'améliorer la conversion alimentaire, le gain moyen quotidien et la santé des animaux. Ces mêmes auteurs ont rapporté que l'apport de GOS à raison de 20mg/kg d'aliment entraîne une augmentation du taux de l'acide caproïque associée à une diminution des taux des acides butyrique, isobutyrique et isovalérique ainsi qu'une augmentation de deux fois et trois fois de la teneur des gaz H₂ et CH₄, respectivement.

Ainsi, **Baurhoo et al. (2007)** ont rapporté une augmentation du nombre Lactobacilles et de dans le contenu caecal des poulets recevant un aliment supplémenté avec 0,2% de MOS en comparaison avec les poulets recevant un antibiotique facteur de croissance (virginamycine).

Les FOS occupent une place importante parmi les oligosaccharides en raison de leur activité antimicrobienne. En effet, l'apport de FOS chez la volaille permet de réduire la colonisation intestinale par *Salmonella* et *Campylobacter* (**Chafai, 2006**).

III. 3. 4. Probiotiques

Un probiotique est un microorganisme vivant, qui une fois ingéré en quantités suffisantes, exerce des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale (**Choct, 2001**).

Bien que la plupart des définitions de probiotique soulignent que les microorganismes devraient être viables pour avoir un effet positif sur l'animal, des études récentes ont démontré que même les souches probiotiques non viables sont capables d'exercer certains effets positifs sur la santé. En effet, ces souches produisent des métabolites tels que l'acide lactique, l'acide acétique, le peroxyde d'hydrogène ainsi que les bactériocines et les enzymes qui demeurent actives dans l'aliment ingéré. D'autres part, elles stimulent le système immunitaire et inhibent l'adhésion des bactéries pathogènes (**Choct, 2001 ; Mohamed Said, 2015**).

Les mécanismes d'action des probiotiques ne sont pas parfaitement connus mais de façon générale, ils agissent par modification de l'écosystème digestif ou optimisation des défenses immunitaires face aux agressions (**Marteau et Shanahan, 2003**). En effet, les probiotiques exercent un effet antagoniste contre les bactéries pathogènes soit par la production de substances antimicrobiennes comme les bactériocines et les acides gras à chaîne courte, soit par adhérence aux cellules épithéliales et à la muqueuse gastro-intestinale, ce qui empêche l'adhésion des pathogènes.

En revanche, la modulation du système immunitaire se fait par stimulation de l'activité phagocytaire des macrophages ou par l'augmentation de la production des anticorps protecteurs (**Gabriel et al., 2005**).

III. 3. 5. Symbiotiques

Un symbiotique est une association synergique de compléments alimentaires probiotiques et d'un prébiotiques (**Ribeiro, 2014**). L'objectif est d'augmenter la durée de survie du micro-organisme probiotique dans l'aliment en lui fournissant un substrat qui lui est spécifique comme par exemple l'association de bifidobactéries avec un FOS (**Choct, 2001**).

L'utilisation des symbiotiques contribue à l'eubiose, inhibe la prolifération des agents pathogènes et stimule le système immunitaire en augmentant le nombre et l'activité des cellules phagocytaires (**Ribeiro, 2014**).

III. 3. 6. Phytobiotiques

Les herbes et extraits de plantes utilisés en alimentation appelés souvent phytobiotiques ou phytogéniques sont habituellement définis comme des composés d'origine végétale incorporés dans les régimes alimentaires des animaux afin d'améliorer la productivité de l'élevage et les qualités des produits alimentaires issus de ces animaux (**Windisch et al., 2008 ; Alloui, 2011**).

Les phytobiotiques regroupent les herbes, les épices ainsi que les huiles essentielles et les oléorésines, correspondant respectivement aux extraits aqueux et non aqueux de composés volatils odorants (**Kamel, 2000 ; Guardia, 2011**).

La plupart des molécules bioactives de ces extraits végétaux font partie des métabolites secondaires ; des métabolites produits suite à des réactions chimiques et non pas directement lors de la photosynthèse et leur confèrent un goût ou une odeur prononcée (**Guardia, 2011**).

Les métabolites secondaires des plantes regroupent un très grand nombre de composés et présentent une diversité structurale importante. En fonction de la présence ou non de l'azote dans leur composition, ces métabolites sont classés en deux groupes (Tableau 05)

Tableau 05. Métabolites secondaires des plantes (Wink, 2008)

Types de métabolites secondaires	
Métabolites contenant de l'azote	Métabolites sans azote
Alcaloïdes	Monoterpènes (C10)
Acides aminés non protéiques	Sesquiterpènes (C15)
Lectines, peptides et polypeptides	Diterpènes (C20)
Alkylamides	Triterpènes, stéroïdes, saponines (C30, C27)
Amines	Tetraterpènes (C40)
Glycosides cyanogéniques	Flavonoïdes, anthocyanines, catéchines, tannins
Glucosinolate	Phénylpropanoïdes, coumarine, lignanes, lignine
	Polyacétylènes, acides gras, cires
	Polyketides
	Glucides, acides simples

III. 3. 6. 1. Propriétés des phytobiotiques utilisés chez les volailles

Depuis l'interdiction de l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance dans l'alimentation animale en Janvier 2006, les produits à base de plantes ont vu leur utilisation se développer fortement en raison de la grande variété de leurs métabolites secondaires et la grande diversité de leurs propriétés biologiques.

Chez la volaille, plusieurs phytobiotiques ont été choisis pour leurs propriétés biologiques suivantes :

III. 3. 6. 1. 1. Propriétés antioxydantes

Les propriétés anti-oxydantes des métabolites secondaires présentent un intérêt dans la conservation des aliments destinés aux animaux en évitant surtout l'oxydation des lipides qui peut entraîner le rancissement des aliments (Guardia, 2011 ; Alloui, 2011).

Les phytobiotiques dotés de pouvoir antioxydant sont utilisés à la fois pour améliorer la santé des animaux et pour assurer la stabilité oxydative de leurs produits tels que les viandes (Alloui, 2011).

Il est bien connu que la production de radicaux libres s'amplifie en condition de stress entraînant ainsi une dégradation du statut anti-oxydant, ce qui est observé fréquemment des élevages avicoles intensifs où la température excessive ou la densité élevée des oiseaux augmentent leur stress oxydant (Simsek et al., 2009).

En outre, il a été constaté que les souches de poulets de chair à croissance rapide, souffrent d'un stress oxydatif important (Nain et al., 2008). Dans de telles situations, le recours aux phytobiotiques permet de réduire le stress oxydatif subi par les animaux et les conséquences négatives pouvant affecter leur croissance. Ces molécules ont également un effet sur la qualité des produits de ces animaux en conduisant notamment à la production d'une viande moins oxydée (Guardia, 2011). Ainsi, l'incorporation de l'extrait d'origan à 200 mg/kg d'aliment chez la dinde diminue significativement la peroxydation des lipides des viandes fraîches et cuites durant le stockage réfrigéré (Botsoglou et al., 2003).

Les propriétés antioxydantes d'un phytobiotique sont liées principalement à la capacité de certaines molécules à capturer les radicaux libres grâce à leur structure telles que les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques (Guardia, 2011).

III. 3. 6. 1. 2. Propriétés antibactériennes

Les effets antibactériens représentent un critère majeur pour la sélection des extraits végétaux destinés à l'alimentation des volailles. En effet, l'amélioration des performances de croissance des volailles par les AFC a été attribuée principalement à leurs propriétés antibactériennes contre le microbiote qui est en concurrence directe avec l'hôte pour certains nutriments et sa réduction par les AFC entraînerait par conséquent une plus grande disponibilité des nutriments pour l'hôte et réduit les coûts énergétiques des réponses immunitaires qui lui sont associées (Dibner et Richards, 2005). Par ailleurs, les phytobiotiques possédant des propriétés antibactériennes pourraient améliorer les performances de croissances des animaux par des mécanismes similaires aux AFCs.

Les effets antibactériens des extraits végétaux ont fait l'objet de plusieurs études *in-vitro* et d'après les résultats obtenus, il est bien clair que l'activité antibactérienne dépend à la fois des caractères physico-chimiques du phytobiotique utilisé, de la dose d'application et des souches testées (Cowan, 1999 ; Alleman et al., 2013). Ainsi, la plupart des études montrent une plus grande sensibilité des bactéries à Gram+ en comparaison avec les bactéries Gram- qui nécessitent des doses plus élevées de l'extrait (Alleman et al., 2013).

Les phytobiotiques permettent aussi grâce aux propriétés antimicrobiennes d'améliorer l'hygiène de l'aliment réduisant les risques de contamination des animaux par les pathogènes présents dans l'aliment (Windisch et al., 2008).

Les mécanismes d'action des différentes molécules ayant des propriétés antibactériennes sont décrits dans le tableau ci-dessous :

Tableau 06. Familles et mécanismes d'actions des composés présentant une activité antibactérienne (d'après Cowan, 1999)

Famille	Sous-famille	Mécanisme d'action
Dérivés protéiques	Dérivés soufrés	Formation de canaux ioniques dans les membranes via la formation de pont disulfures
	Leptines	Inhibition compétitive de l'adhésion des bactéries à leurs récepteurs polysaccharidiques
	Alcaloïdes	Intercalent l'ADN
Terpènes, terpénoïdes saponines	Terpènes, Terpénoïdes saponines	Perméabilisation des membranes bactériennes Perméabilisation des membranes bactériennes
Composés phénoliques	Phénols simples et acides phénoliques	Formation de complexes avec de nombreuses protéines, déstructuration des membranes bactériennes, indisponibilité de certains substrats pour les bactéries
	Quinones Tannins	Inactivation de protéines membranaires Liaisons à différentes protéines : substrat adhésines, enzymes, paroi cellulaire, membrane. Formation de complexes avec les minéraux
	Flavonoïdes, Flavones, flavonoles	Liaisons aux adhésines, liaisons aux parois cellulaires, désactivation des enzymes.

III. 3. 6. 1. 3. Propriétés de stimulation de la digestion

La stimulation des sécrétions digestives et l'amélioration des activités enzymatiques sont la clé des actions nutritionnelles. Parmi les produits d'origine végétale, les huiles essentielles semblent être les plus prometteuses car elles stimulent d'une part l'appétit grâce à leur odeur typique et d'autre part les sécrétions digestives. En effet, Plusieurs chercheurs ont montré que l'utilisation des huiles essentielles chez les poulets à des doses entre 0,075 et 0,15 g/kg permet d'augmenter l'activité de la trypsine et de l'amylase (Platel et Srinivasan, 2004). Il a été aussi constaté que les extraits végétaux (origan à 5g/kg, thym à 1g/kg et piment rouge à 1g/kg) stimulent la sécrétion du mucus intestinal chez les poulets, ce qui altère l'adhésion des bactéries pathogènes aux cellules épithéliales et contribue par conséquent à stabiliser l'équilibre microbien dans l'intestin des animaux (Jamroz et al., 2006).

III. 3. 6. 2. Effet des phytobiotiques sur les animaux et leurs produits

Chez la volaille, les phytobiotiques sont généralement incorporés dans l'aliment mais ils peuvent être parfois incorporés dans l'eau de boisson. Ils sont habituellement employés chez le poulet de chair afin d'améliorer les performances de croissance ainsi que la qualité de la viande (**Guardia, 2011**).

III. 3. 6. 2. 1. Effet sur les performances de croissance

Plusieurs études ont porté sur l'effet de phytobiotiques, principalement les huiles essentielles, sur les performances de croissance chez le poulet de chair mais les résultats obtenus sont très variables d'une étude à l'autre soit pour un même phytobiotique ou pour des extraits différents.

Certains phytobiotiques utilisés en mélange ont donné des résultats prometteurs. En effet, l'incorporation d'un mélange de six huiles essentielles (agrumes, origan, sauge, laurier, fenouillet myrte) dans l'alimentation de poulet de chair à la dose de 24mg/kg a significativement amélioré l'indice de conversion (**Çabuk et al, 2006**).

De même, **Lewis et ses collaborateurs (2003)** ont montré un effet positif de l'ail (1g/kg) sur l'indice de consommation et la croissance chez le poulet. Ces auteurs ont attribué l'amélioration des performances à l'effet antibactérien de l'ail sur les bactéries pathogènes. Cependant, d'après plusieurs essais menus chez le poulet de chair, il semble y avoir un effet de la dose sur la réponse des animaux tel qu'il ressorte de l'étude effectuée par **Mahmood et al. (2009)** qui ont démontré que l'incorporation d'un broyat d'ail à 5g/kg a entraîné une amélioration de l'indice de consommation plus importante que la dose double (10g/kg).

A l'inverse, l'amélioration de l'indice de consommation était plus importante avec l'extrait d'origan à 0.5g/kg par rapport à la dose de 0.25g/kg (**Malayoglu et al., 2010**). Toutefois, les effets d'un extrait issu de la même plante et administré à la même dose peuvent différer ou être même opposés entre deux études. C'est ce qui était observé par exemple pour l'huile essentielle de cannelle qui avait montré l'amélioration des performances de croissance dans un essai et leur détérioration dans un autre essai et à la même dose (0.1g/kg) (**Lee et al., 2003**).

III. 3. 6. 2. 2. Effet sur la qualité de la viande

Les phytobiotiques peuvent avoir des effets sur les caractéristiques des carcasses, les caractéristiques organoleptiques de la viande et statut d'oxydation de cette dernière durant sa conservation. Les résultats concernant l'effet des extraits de plantes sur la qualité de la carcasse sont très variables d'une étude à l'autre selon la nature du

phytobiotique utilisé. Ainsi des augmentations significatives du poids des carcasses et du rendement en carcasse ont été rapportées chez le poulet recevant un aliment complétement avec 0,7 % de l'HE de thym mais ces augmentations n'étaient pas significatives à des doses plus faibles de 0,1 et 0,3%. Cependant, l'utilisation des feuilles de thym broyées à 5 et 10g/kg chez le poulet n'a montré aucun effet sur le rendement en carcasse (**Alleman et al., 2013**).

En revanche, l'incorporation de thym séché à 2% dans l'alimentation a entraîné des augmentations de 3,2% et 3,8% du rendement en carcasses des femelles et des mâles, respectivement (**Guardia, 2011**).

Selon **Basmacioglu et al. (2004)**, l'inclusion des extrait végétaux dans l'alimentation des volailles peut réduire l'oxydation des lipides de la viande conservée à -20°C ou à 4°C mais. Il a été rapporté que l'HE d'origan retarde l'oxydation des lipides dans la viande et que les extraits d'origan peuvent stabiliser le tissu adipeux (**Lee et al., 2004**).

Bien que les études portant sur les effets des phytobiotiques sur la qualité organoleptique de la viande ne soient pas nombreuses, des modifications de l'odeur et de la couleur de la viande des filets et des cuisses de poulet ont été observées avec l'HE de thym de 0,1 à 0,7 %, ainsi qu'une amélioration de la tendreté de la viande et de la flaveur à 0,3% et 0,7%, respectivement (**Alleman et al., 2013**).

D'une manière générale, ces effets sont dose dépendants, les doses les plus importantes étant les plus efficaces à condition qu'elles restent au-dessous du seuil de toxicité (**Guardia, 2011**).

III. 3. 6. 3. Facteurs influençant l'efficacité des phytobiotiques

Les effets des phytobiotiques sur les animaux ont fait l'objet de nombreux travaux de recherche mais les résultats sont considérablement variables d'une étude à l'autre. Cette variabilité peut être attribuée à en grande partie aux variations des conditions de l'étude en matières de produits testés, animaux utilisés, régimes alimentaires ou conditions d'élevage appliquées.

III. 3. 6. 3. 1. Nature et mode de présentation des phytobiotiques

La nature et la concentration des composés bioactifs présents dans une plante varient en fonction de sa génétique et son environnement, ce qui peut justifier la variabilité des résultats obtenus avec des produits végétaux issus de la même plante et administrés à la même dose. En effet la teneur en principes actifs varie selon les conditions agronomiques (nature du sol, géographique, climat, altitude), l'état physiologique de la plante (âge et maturité), le stade et la période de récolte, ainsi que la partie de la plante utilisée (feuille, fleur, racine, écorce...)

pour extraire l'HE ou pour préparer le broyat ou l'extrait sec. En plus de cette variabilité inhérente à la plante, s'ajoute les méthodes de traitement de la plante après sa récolte à savoir le séchage et l'extraction. Les conditions d'extraction (nature du solvant, température, temps de contact...) conduisent à la production de composés avec des propriétés et d'activités différentes, ce qui peut avoir un impact sur l'efficacité du phytobiotique (**Alleman et al., 2013**).

Par ailleurs, la dose d'administration du phytobiotique joue aussi un rôle variable sur son efficacité. Cette dernière peut être proportionnelle à la dose (elle augmente avec l'augmentation de la dose) ou au contraire, elle décroît avec les doses croissantes et dans certains cas l'effet dose est accompagné d'un effet seuil au-dessus duquel on obtient un effet devient négatif. L'efficacité d'un phytobiotique peut être aussi influencée par le mode de son administration (incorporation dans l'alimentation ou dans l'eau) (**Jurani et al., 2008**).

III. 3. 6. 3. 2. Age des animaux

Les phytobiotiques ont montré des effets différents selon l'âge des animaux. Certains travaux ont rapporté des effets bénéfiques plus importants au cours de la période de démarrage, alors que d'autres ont montré un effet négatif sur la croissance des poussins au cours du démarrage et ceci a été attribué aux effets antibactériens du phytobiotique sur le microbiote (**Cabuk et al., 2006**).

III. 3. 6. 3. 3. Qualité de l'aliment

➤ Composition

La composition de l'aliment ou la présence d'autres additifs peut influencer sur l'efficacité des phylogéniques. Ainsi, certains phytobiotiques sont plus efficace chez des animaux nourris avec un régime à base de maïs par rapport à un régime à base de blé et d'orge (**Guardia, 2011**).

D'autre part, certains composés actifs des huiles essentielles comme les composés phénoliques se lient aux composés hydrophobes de l'aliment, ce qui expliquerait l'absence d'effet antibactérien de certaines huiles essentielles *in vivo* alors qu'elles sont efficaces *in vitro* (**Lallès et al., 2009**).

Certains phytobiotiques sont plus efficaces lorsqu'ils sont utilisés en association avec un mélange d'enzymes ou certains d'autres facteurs de croissance. C'est le cas par exemple des huiles essentielles et des acides organiques qui ont des effets synergiques sur les performances et la santé des animaux (**Malayoglu et al., 2010**).

➤ **Fabrication et stockage**

Lors de la fabrication des aliments, des interactions avec des constituants de l'aliment ou des pré-mélanges, ou l'application de traitements thermiques trop intenses peuvent conduire à la réduction voire la disparition de certains composants du phytobiotique ou à leur modification structurale. La composition des phytobiotiques peut varier également selon les conditions de stockage du fait de la volatilité relative de certains composants dont les concentrations peuvent diminuer au fil du temps (Alleman et al., 2013).

III. 3. 6. 4. Mécanismes d'action *in vivo*

Malgré la connaissance des propriétés biologiques des phytobiotiques, les mécanismes d'action *in vivo* ne sont pas bien élucidés.

Après ingestion du phytobiotique, ses composants se retrouvent dans la lumière de la partie supérieure du tube digestif, du jabot à la partie distale de l'intestin grêle où elles peuvent subir certaines modifications par la microflore et agissent à leur tour sur ce microbiote. Après leur absorption par l'épithélium digestif, ces molécules peuvent être métabolisées au niveau des entérocytes.

Après passage dans la circulation porte, elles peuvent subir des modifications au niveau du foie si elles ont une forte affinité pour les hépatocytes et les enzymes hépatiques, puis elles atteignent la circulation générale. Les molécules de phytobiotiques non absorbées sont évacuées avec les contenus digestifs dans la partie inférieure du tractus digestif (Guardia, 2011, figure 08).

Globalement, le devenir des phytobiotiques dans l'organisme dépend en grande partie de leur composition. Ainsi en raison de leur propriété lipophile, les HE sont rapidement absorbées dans l'estomac et la partie supérieure de l'intestin grêle puis elles sont métabolisées et éliminées par les reins sous forme de sulfates ou de glucuronides ou expirées sous forme de CO₂ (Sharma et al., 2007).

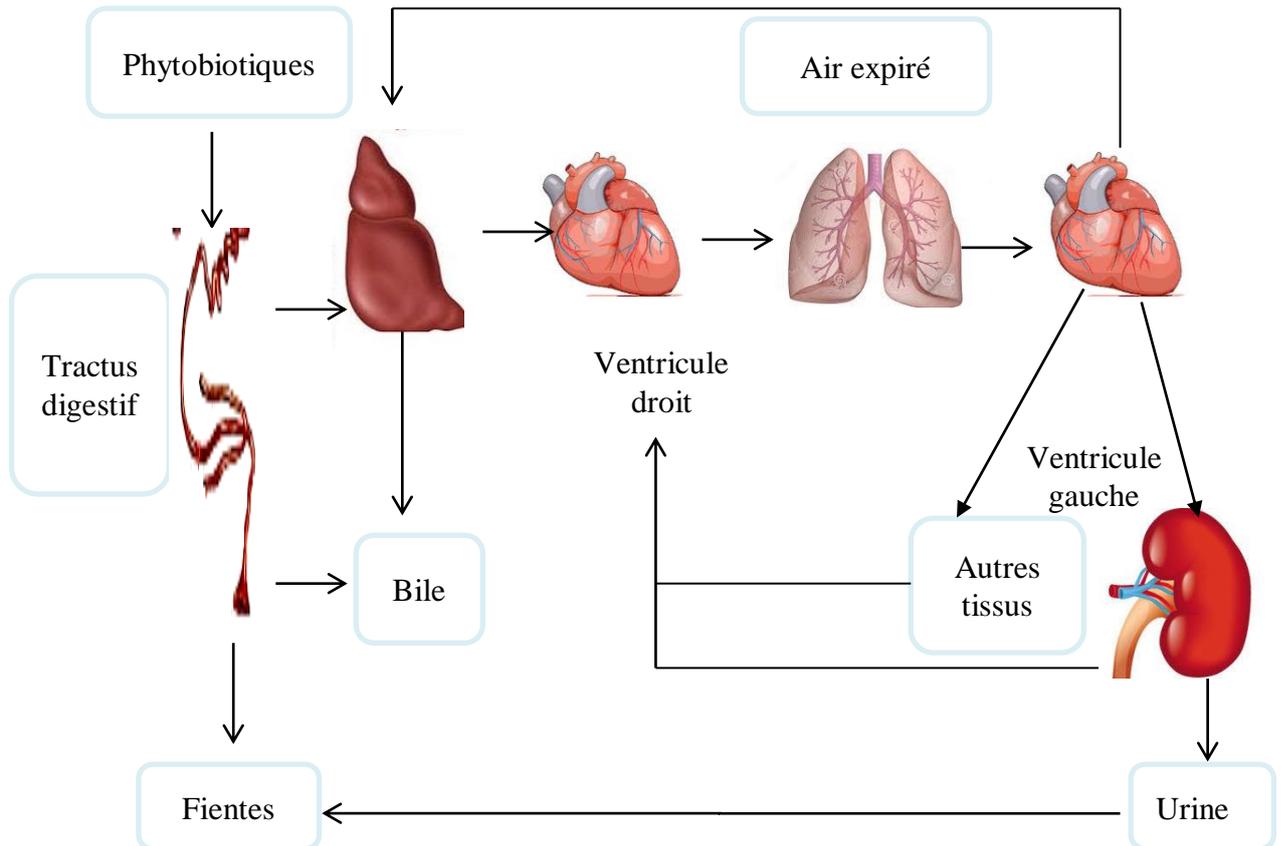


Figure 08. Trajet des phytobiotiques dans l'organisme après ingestion (d'après Guardia, 2011)

III. 3. 6. 4. 1. Action sur le microbiote digestif

La relation entre le microbiote digestif et l'effet promoteur de croissance des phytobiotiques a fait l'objet de nombreuses études. Cependant les résultats sont très variables et restent ambigus. En effet certains travaux ont montré une modification du microbiote digestif accompagnée d'une amélioration des performances de croissance, d'autres études ont rapporté une modification du microbiote digestif sans modification de la croissance des animaux. Enfin, un effet bénéfique sur la croissance peut également être observé sans conséquences sur le microbiote digestif (Dieumou et al., 2009; Kumar et al., 2010).

A l'inverse des effets positifs observés *in vitro*, le manque d'effet sur le microbiote digestif pourrait être dû à plusieurs facteurs tels que la concentration, le milieu et la composition de l'aliment. Les concentrations du phytobiotique utilisées *in vitro* sont souvent supérieures à celles utilisées *in vivo* et les milieux biologique complexes du tube contenu digestif sont différent des milieux *in vitro* (Guardia, 2011).

Ainsi certains composants alimentaires comme les teneurs élevées en lipides et/ ou protéines peuvent diminuer l'efficacité des composés antibactériens en protégeant par exemple les bactéries contre l'action des huiles essentielles.

La richesse des aliments en nutriments par rapport aux milieux de culture *in vitro* pourrait permettre aux bactéries de réparer plus rapidement les dommages causés par ces produits phytogéniques (Gill et al., 2002).

III. 3. 6. 4. 2. Action sur le tractus digestif

L'ingestion des phytobiotiques permet d'améliorer les fonctions intestinales par stimulation des sécrétions digestives et l'amélioration des activités enzymatiques qui sont la clé des actions nutritionnelles (Platel et Srinivasan, 2004). Parmi les produits d'origine végétale, les huiles essentielles semblent être les plus prometteuses car elles stimulent d'une part l'appétit grâce à leur odeur typique et d'autre part les sécrétions digestives. En effet, Plusieurs chercheurs ont montré que l'utilisation des huiles essentielles chez les poulets à des doses entre 0,075 et 0,15 g/kg permet d'augmenter l'activité de la trypsine et de l'amylase (Lee et al., 2003; Jang et al., 2004 ; Jamroz et al., 2005). Il a été aussi constaté que les extraits végétaux (origan à 5g/kg, thym à 1g/kg et piment rouge à 1g/kg) stimulent la sécrétion du mucus intestinal chez les poulets, ce qui altère l'adhésion des bactéries pathogènes aux cellules épithéliales et contribue par conséquent à stabiliser l'équilibre microbien dans l'intestin des animaux (Jamroz et al., 2006).

D'autres travaux ont pu mettre en évidence chez d'autres espèces animales une stimulation des sécrétions gastriques et biliaires lors de l'ingestion de certains phytobiotiques. Les enzymes pancréatiques et les enzymes intestinales telles que la lipase, la trypsine, la chymotrypsine, l'amylase, la sucrase, la lactase ou la maltase peuvent par exemple être stimulées chez le rat en fonction de l'extrait de plante utilisé. Par exemple, le curcuma stimule les enzymes digestives chez le rat alors que la menthe a un effet inhibiteur (Guardia, 2011).

Cependant, les effets sur le tractus digestif et la digestion ne peuvent être généralisés à tous les extraits végétaux car certaines études n'ont rapporté aucun effet (Cross et al., 2007).

III. 3. 6. 5. Phytobiotiques utilisés au cours de ce travail de thèse

Notre travail a été focalisé sur l'utilisation des extraits d'agrumes comme phytobiotiques. Les fruits d'agrumes utilisés sont l'orange douce (*Citrus sinensis* L.) et le citron (*Citrus limonum* L.).

Les agrumes sont très riches en eau avec un pourcentage de plus de 85% . Leur composition en glucides varie de 8,5 à 12% avec une teneur négligeable en lipides et l'absence de cholestérol.

Ils renferment le potassium, phosphore, magnésium et calcium et une excellente source de fibres. Le profil vitaminique est dominé par une teneur élevée en vitamine C (Lorient, 1998).

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses espèces d'agrumes, ce sont quantitativement les plus importants métabolites secondaires de ces derniers; ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires, permettant à l'organisme de renforcer ses moyens de défense contre les processus d'oxydation **(Kamran, 2010)**.

Les fruits de *Citrus* représentent une source importante de molécules bioactives à activité antioxydante telles que l'acide ascorbique, les composés phénoliques totaux et les pectines qui sont très importants en nutrition humaine. De plus, les principaux flavonoïdes qui composent le fruit de *Citrus* (hespéridine, narangine, narirutine et eriocitrine) jouent un rôle important contre la peroxydation des lipides et dans le piégeage des radicaux libres et ils ont aussi une activité anti-cancérogène et une activité anti-inflammatoire **(Hegazy et Ebrahium, 2012)**.

ETUDE
EXPERIMENTALE



*MATERIEL
ET METHODES*



La partie expérimentale du présent travail s'articule sur deux volets :

- Le premier volet consiste en un essai expérimental portant sur l'utilisation d'additifs alimentaires à base d'agrumes chez le poulet de chair.
- Le deuxième volet est une étude *in vitro* portant sur l'évaluation de l'effet prébiotique de ces des additifs et sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de trois extraits phénoliques préparés à partir des phytobiotiques utilisés dans l'essai expérimental.

IV. 1. Evaluation des effets des additifs alimentaires *in vivo*

IV. 1. 1. Additifs alimentaires utilisés dans l'expérimentation

Les phytobiotiques utilisés comme additifs alimentaires dans notre expérimentation sont :

- Les écorces d'orange douce (*Citrus sinensis* L. var. Thomson Navel) et les écorces de citron (*Citrus limonum* L.). Les fruits ont été achetés dans une exploitation agricole privée située dans la région de Chlef (**Annexe 01**).
- Un concentré d'agrumes standardisé (Nor-Spice AB®) sous forme de poudre, fourni gracieusement par la société Norfeed Sud (Beaucouzé, France) (**Annexe 01**).

IV. 1. 1.1. Préparation des poudres d'écorces d'orange et de citron

Les fruits d'agrumes (orange douce et citron) ont été bien lavés, séchés puis épluchés. Les écorces ont été ensuite séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière puis broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur (FRITSCH pulverisateur, Allemagne). Les poudres obtenues ont été ensuite conservées dans des bocaux en verre.

IV. 1. 2. Préparation des rations expérimentales

Deux types d'aliments pour poulets de chair ont été fabriqués par la société de fabrication de l'aliment de Bétail (SOFABEL, Sougeur, Tiaret). Il s'agit d'un aliment de démarrage (J1- J21) et un aliment de croissance (J22- J42).

Cinq rations expérimentales ont été ensuite formulées et adaptées à chaque phase: une ration ne contenant aucun additif alimentaire, une ration supplémentée avec 100 ppm d'un antibiotique facteur de croissance ; Avilamycine (Eli Lilly Company, Indianapolis, USA), une ration supplémentée avec 250 ppm de la poudre d'écorce d'orange, une ration additionnée de 250 ppm de la poudre d'écorce de citron et une ration additionnée de 250 ppm de la poudre Nor-Spice AB®.

Nous avons ajouté dans toutes les rations 250 ppm d'un anticoccidien naturel Norponin XO₂ (Nor-Feed, Beaucouzé, France).

La formulation des aliments de poulet de chair et leurs caractéristiques durant chaque phase sont rapportées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07. Composition des aliments de démarrage et de croissance.

Elément	Phase de démarrage	Phase de croissance
Matières premières		
Maïs	60%	60,4 %
Tourteaux de Soja	33%	30%
Son fin blé	2,5%	5%
Phosphate	2%	1,6%
Huile acide	0,5%	1%
Carbonate	1%	1%
CMV	1%	1%
Valeur nutritionnelle		
Energie métabolisable (Kcal)	2950	3100
Protéines brutes (%)	22.9	23
Cellulose (%)	8.6	8.7
Matières grasses (%)	3.4	3.2

La composition du CMV est rapportée dans le tableau suivant :

Tableau 08. Composition du CMV poulet de chair Méthio 180 (LACTAMEL®)

Elément		Phase démarrage	Phase croissance
Vitamines (mg/kg)	vit A	1000000	1000000
	vit D3	200000	200000
	vit K3	200	200
	vit E	2000	2000
	vit B1	150	150
	vit B2	500	500
	vit B6	300	300
	vit B12	2	2
	Niacine/ PP	2500	2500
	Acide pantothénique	1000	1000
	Acide folique	100	100
	Biotine	10	200
Oligo-éléments (mg/kg)	Fer	6000	6000
	Zinc	6000	6000
	Cuivre	750	750
	Manganèse	10 500	10 500
	Iode	150	150
	Cobalt	60	60
	Sélénium	30	30
Additifs (mg/kg)	Méthionine	180 000	180 000
	Chlorure de Choline	35 000	35 000
	Antioxydant	10 000	10 000
	Sel	300 000	300 000

IV. 1. 3. Cheptel expérimental

IV. 1. 3. 1. Période et lieu de l'étude

L'expérimentation s'est étalée sur une période de 42 jours (du 19 Octobre au 29 Novembre 2016). Elle a été réalisée dans une ferme expérimentale privée située à Sougueur (Tiaret, Algérie). Les analyses biochimiques et bactériologiques ont été réalisées au niveau des laboratoires de biochimie clinique et de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret.

IV. 1. 3. 2. Conduite d'élevage

IV. 1. 3. 2. 1. Préparation du bâtiment et du matériel d'élevage

Une semaine avant la réception des poussins, le bâtiment d'élevage a été nettoyé à l'aide d'une solution de biocide puis les murs et le sol ont été chaulés par la chaux préparée.

Quatre jours avant la réception des poussins, l'aire de l'élevage a été recouverte par une fine couche de sable doublée d'une couche d'environ 5 cm de litière constituée de paille hachée et les poussinières délimitées par les cadres grillagés ont été installées.

Deux jours avant la réception des poussins, des radiants à gaz butane étaient suspendus d'une manière inclinée (environ 45°) à une hauteur de 130 cm par rapport au sol (Photo 01), ce qui a permis de chauffer le bâtiment d'élevage à une température de 31°C (36°C sous le radiant). Un pédiluve contenant une solution de biocide a été placé à l'entrée du bâtiment.



Photo 01. Préparation des poussinières et mise en place des radiants

IV.1. 3. 2. 2. Réception et mise en place des poussins

Six cent soixante cinq (665) poussins d'un jour de souche Arbore-Acres, de sexe mélangé de poids moyen de 49g, provenant d'un même couvoir privé situé dans la commune de Mahdia (Tiaret) ont été pesés puis répartis en 5 groupes expérimentaux (133 poussins/groupe) (Photo 02).

Les animaux ont été entretenus au sol sur une litière de paille hachée avec une densité de dix sujets par mètre carré à l'âge de l'abattage.



Photo 02. Mise en place des poussins

Les poussins ont reçu à J1 de l'eau additionnée de sucre à raison de 20 g/L dans des abreuvoirs cloches pendant huit heures.

IV. 1. 3. 2. 3. Luminosité et température

Un programme lumineux de 23 heures d'éclairage est appliqué durant la première semaine puis une luminosité de 20 heures durant le reste de la période d'élevage.

La température a atteint 36°C sous le radiant le premier jour, soit une température de 31°C dans le bâtiment d'élevage puis diminue graduellement pour atteindre 21°C à la fin de la période expérimentale.

IV. 1. 3. 2. 4. Alimentation et abreuvement

Cinq groupes expérimentaux recevant un aliment de base standard adapté à chaque phase (démarrage et croissance) ont été utilisés dans cette étude :

1. Groupe Témoin négatif (TEM) recevant un aliment de base farineux non supplémenté.
2. Groupe témoin positif (AVMY) recevant un aliment de base supplémenté d'un antibiotique facteur de croissance, avilamycine.
3. Groupe (NSAB) recevant un aliment de base supplémenté avec un extrait commercial standardisé d'agrumes (Nor-Spice AB®).
4. Groupe (PEO) recevant un aliment de base supplémenté avec la poudre d'écorce d'orange douce.
5. Groupe (PEC) recevant un aliment de base supplémenté avec la poudre d'écorce de citron.

L'aliment a été distribué *ad libitum* dans des alvéoles à œufs durant les trois premiers jours puis dans des mangeoires linéaires de 1 mètre de long pendant les dix jours suivants (Photo 03) ensuite dans des mangeoires trémies durant le reste de la période d'élevage (Photo 04).

L'eau de boisson distribuée aux animaux est une eau de puits contrôlée chaque trimestre par le bureau d'hygiène communal. L'abreuvement est assuré par une circulation d'eau accessible par un système d'abreuvoirs automatiques (Photo 04).

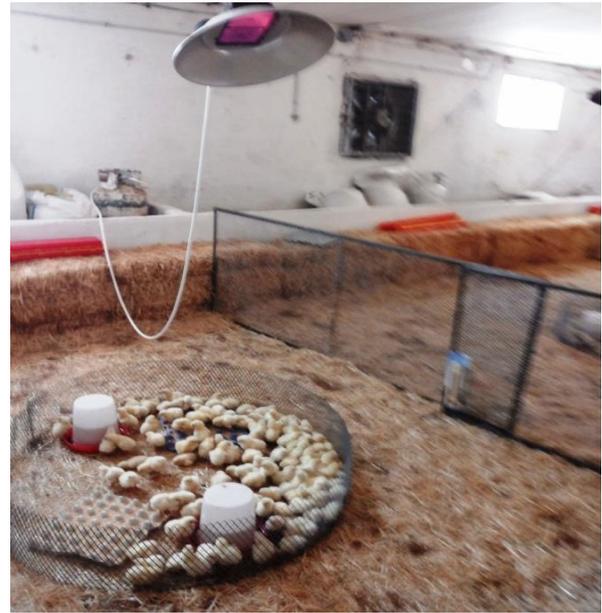


Photo 03. Mangeoires (linéaires à gauche et alvéoles à œufs à droite) et abreuvoirs cloches utilisés durant les dix premiers jours de l'élevage



Photo 04. Mangeoires trémies et système d'abreuvement utilisés à partir du 11^{ème} jour jusqu'à la fin de la période expérimentale.

IV. 1. 4. Mesure des paramètres zootechniques, biochimiques et bactériologiques

IV. 1. 4. 1. Effet des additifs sur les paramètres zootechniques

IV. 1. 4. 1. 1. Consommation alimentaire

La quantité moyenne d'aliments consommée est calculée à la fin de chaque période par la formule suivante :

$$CA \text{ (g/sujet)} = \frac{\text{Qtité d'aliment distribuée (g)} - \text{Qtité d'aliment non ingérée(g)}}{\text{nombre de sujets en vie}}$$

IV. 1. 4. 1. 2. Gain moyen quotidien

Les pesées effectuées à la fin de chaque phase de l'élevage ont permis de calculer le gain moyen quotidien en faisant le rapport du gain pondéral pendant une période sur la durée correspondante :

$$GMQ \text{ (g/jour)} = \frac{\text{Gain de poids pendant une période (en gramme)}}{\text{durée de la période (en jours)}}$$

IV. 1. 4. 1. 3. Indice de Consommation

C'est le rapport entre la quantité d'aliment distribuée durant une période et la somme des gains de poids durant cette période. Dans cette étude l'indice de consommation (IC) est calculé à la fin de chaque phase (21^{ème} et 42^{ème} jour) par la formule suivante :

$$IC = \frac{\text{Quantité d'aliment consommée par période (g)}}{\text{gain de poids par sujet sur cette période (g)}}$$

IV. 1. 4. 1. 4. Poids vif moyen

Le poids vif moyen est le rapport de la somme des poids des individus d'un même groupe sur leur effectif.

$$\text{Poids vif moyen (g)} = \frac{\text{somme des poids vifs des individus d'un même groupe}}{\text{nombre des sujets du groupe}}$$

IV. 1. 4. 1. 5. Rendement de carcasses

À la fin de la période d'expérimentation (J42), 12 sujets ont été choisis au hasard de chaque groupe, pesés puis abattus et éviscérés.

Le rendement de carcasses exprimé en pourcentage correspond au rapport entre le poids de la carcasse et le poids vif du sujet.

$$RC (\%) = \frac{\text{Poids de la carcasse éviscérée}}{\text{poids vif du sujet}} \times 100$$

IV. 1. 4. 1. 6. Poids des organes

Le pancréas et certains organes tels que le proventricule, le gésier, la rate, le cœur et le foie ont été détachés puis pesés individuellement à l'aide d'une balance électronique (BOMANN®).

IV. 1. 4. 1.7. Détermination de la longueur intestinale

Après éviscération des carcasses, la masse intestinale de chaque sujet a été prélevée et placée dans des pots propres. Ces derniers ont été identifiés (le groupe et la date du prélèvement) puis placés dans une glacière et acheminés au laboratoire afin de mesurer la longueur intestinale à l'aide d'un ruban mètre.

IV. 1. 4. 2. Taux de Mortalité

Un relevé quotidien de la mortalité est effectué durant toute la période expérimentale avec réalisation d'un examen nécropsique afin de déterminer la cause de la mort. Le taux de mortalité est calculé à la fin de chaque phase par la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité (\%)} = \frac{\text{Nombre des sujets morts}}{\text{nombre total des sujets du groupe}} \times 100$$

IV. 1. 4. 3. Effets des additifs alimentaires sur les paramètres sanguins biochimiques

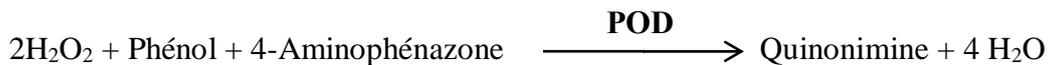
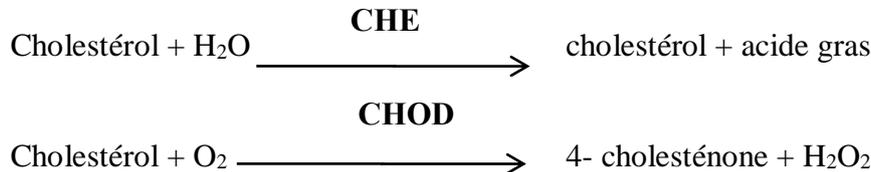
A la fin de la période d'essai (J42), 12 sujets ont été choisis aléatoirement de chaque groupe puis des prélèvements sanguins ont été effectués à partir de la veine jugulaire. Le sang a été recueilli dans des tubes héparinés puis centrifugé immédiatement à 3000 tours/min pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse (SIGMA 2-15). Les plasmas ont été ensuite séparés et conservés dans des tubes eppendorf à -20°C jusqu'à leur analyse.

Nous avons utilisé des méthodes colorimétriques pour le dosage du cholestérol total, des triglycérides et du glucose à l'aide de Kits commerciaux SPINREACT (Espagne).

IV. 1. 4. 3. 1. Dosage du cholestérol total

- **Principe**

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré suivant la réaction suivante (Meiattini et al., 1978) :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé. La lecture est effectuée à une absorbance de 505 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (OPTIZEN).

- **Calcul**

La concentration du cholestérol est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol dans l'Echantillon (mg/dL)} = \frac{(A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Etalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 200 \text{ (Etalon conc)}$$

IV. 1. 4. 3. 2. Dosage des triglycérides

- **Principe**

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéine lipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l' LPL présence de glycérolkinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-diphosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par le GPO (Buccolo et al., 1973). Au final, le H₂O₂ réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé. La lecture est effectuée à une absorbance de 505 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV- IVS (OPTIZEN).

- **Calcul**

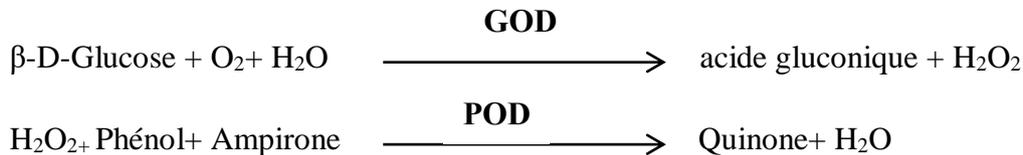
La concentration de triglycéride est calculée par la formule suivante :

$$\text{Triglycéride dans l'Echantillon(mg/dL)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200 \text{ (Etalon conc)}$$

IV. 1. 4. 3. 3. Dosage du glucose

- **Principe**

Le glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit se détache au moyen d'un accepteur chromogénique d'oxygène, de phénol-ampirone en présence de peroxydase (POD) (**Kaplan et al., 1984**) :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose présent dans l'échantillon testé. La lecture est effectuée à une absorbance de 505 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-IVS (OPTIZEN).

- **Calcul**

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

$$\text{glucose dans l'échantillon(mg/dL)} = \frac{(A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Etalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 100 \text{ (Etalon conc)}$$

IV. 1. 4. 4. Effets des additifs alimentaires sur la flore cœcale

L'action des additifs alimentaires sur la flore digestive a été évaluée par la recherche et le dénombrement des colibacilles, des entérocoques et des lactobacilles dans le contenu cœcal prélevé après sacrifice de 12 sujets dans chaque groupe à la fin de chaque phase de l'élevage (J21 et J42).

IV. 1. 4. 4. 1. Préparation des solutions mères

Un gramme (1g) du contenu caecal a été pesé et placé aseptiquement dans un tube à essai stérile contenant 9 ml d'eau physiologique (0.9 %) stérile afin d'obtenir une solution mère (SM) diluée à 10^{-1} . Les tubes ont été ensuite agités à l'aide d'un vortex (DRAGON LAB MX-S) pour homogénéiser les solutions **(Roussou, 2004)**.

IV. 1. 4. 4. 2. Préparation des dilutions décimales

La préparation des dilutions décimales consiste à réaliser des dilutions successives au 1/10 en introduisant aseptiquement à l'aide d'une micropipette 1 ml de la SM dans un tube à essai stérile contenant préalablement 9 ml d'eau physiologique stérile : cette dilution constitue la dilution 10^{-2} . La préparation de la dilution 10^{-3} se fait par transfert de 1 ml de la dilution précédente dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. La dilution suivante (10^{-4}) a été préparée à partir de la dilution 10^{-3} en suivant la même technique décrite précédemment **(Roussou, 2004)**.

IV. 1. 4. 4. 3. Dénombrement bactérien

Nous avons utilisé les méthodes classiques de dénombrement par comptage des colonies sur milieux sélectifs **(Bourgeois et Leveau, 1991)**.

Pour le dénombrement des colibacilles, 0.1 ml de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}) est étalé à l'aide d'un râteau sur la surface du milieu de MacConkey (Parodonsia, Conda S. A, Espagne) puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h **(Riyazi et al., 2015)**.

Pour le dénombrement des entérocoques, 0.1 ml de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}) est étalé à l'aide d'un râteau sur la surface du milieu BEA (Parodonsia, Conda S. A, Espagne) puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h **(Pourakbari et al., 2015)**.

Pour le dénombrement des lactobacilles, 100 μl de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}) sont étalés à l'aide d'un râteau sur la surface du milieu MRS (Parodonsia, Conda S. A, Espagne) puis les boîtes sont incubées à 30°C pendant 48h à 72h dans une jarre anaérobie en présence de sachet catalyseurs générateurs de gaz (AnaeroGenTM 2.5L, Oxoid Ltd, Hants) **(Pourhoussein et al., 2012)**.

Seules les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies sont retenues pour déterminer les UFC. En tenant compte de la dilution, la population est exprimée en Log 10 UFC/g **(Roussou, 2004)**.

IV. 1.4. 4. 4. Identification des bactéries

L'identification des bactéries a été effectuée par :

- Examen macroscopique des colonies bactériennes sur les milieux sélectifs **(Annexe 05)**.

- Examen microscopique d'un frottis bactérien coloré par la coloration de Gram (**Annexe 05**).
- Examen biochimique par galerie API 20 E pour les entérobactéries (**Annexe 07**) et API 50 CH pour les Lactobacilles (**Annexe 08**). Pour les entérocoques, nous avons effectué uniquement le test de la catalase.

IV. 1. 4. 4. 1. Principe des galeries API

Les tests API permettent soit de mettre en évidence la capacité à fermenter des sucres comme pour la galerie API 50 CH (auxanogramme), soit de rechercher directement les enzymes bactériennes susceptibles de produire une réaction enzymatique en présence du substrat déshydraté présent dans les microtubes de la galerie comme la galerie API 20 E.

a. La galerie API 20 E

La galerie API 20 E (bioMérieux® SA. Réf 20 160, 2016) comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres Bacilles Gram négatif non fastidieux. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Une suspension bactérienne est préparée en mélangeant quelques colonies prélevées d'une culture jeune et pure dans l'eau physiologique stérile. La suspension est ajustée ensuite à l'échelle 0.5 McFarland.

La galerie est ensuite incubée à 37°C pendant 24 heures. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (**Annexe 06**) et l'identification est réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification Apiweb™ V4.1 développé par bioMérieux (<https://apiweb.biomerieux.com/>).

b. La galerie API 50 CH

La galerie API 50 CH (bioMérieux® SA. Réf 50 300, 2015) est constituée de 50 microtubes permettant l'étude de la fermentation des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques).

API 50 CH est utilisée en combinaison avec API 50 CHL medium pour l'identification des *Lactobacillus* et apparentés.

L'inoculum bactérien est préparé à partir d'une culture pure de 24 heures sur gélose MRS dans API 50 CHL medium. La suspension bactérienne doit avoir une opacité égale à 2 McFarland.

Durant la période d'incubation, la production d'acides par fermentation en anaérobiose se traduit par un changement de couleur dans le tube révélé par l'indicateur de pH du milieu choisi.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification du profil numérique est réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification Apiweb™ V5.1 développé par BioMérieux (<https://apiweb.biomerieux.com/>).

IV. 2. Evaluation des effets des phytobiotiques *in vitro*

IV. 2. 1. Evaluation de l'effet prébiotique

- **Principe**

Le pouvoir prébiotique d'une substance est défini par son aptitude, en fonction de son taux d'incorporation et d'un temps d'incubation défini, à faire proliférer les bactéries bénéfiques telles que les lactobacilles. A un temps donné, plus la concentration des bactéries dans le milieu augmente, plus la substance aura un effet prébiotique et vice versa (Mandari et al., 2007).

- **Préparation de l'inoculum bactérien**

Une suspension bactérienne de *Lactobacillus brevis* a été préparée à partir d'une culture jeune de 24 heures : des colonies isolées et parfaitement identiques ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine et placées dans un tube contenant le bouillon MRS stérile. La suspension ainsi obtenue a été ajustée au standard 2 McFarland par lecture de la densité optique à 625nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (OPTIZEN).

- **Réalisation du test**

Afin d'évaluer la croissance des souches de *Lactobacillus brevis* isolées à partir du contenu cæcal des poulets de chair utilisés dans l'essai expérimental, des bouillons MRS à pH 6,5 contenant 0.2% (p/v) des poudres d'écorces d'orange et de citron ainsi que la poudre Nor-Spice AB® ont été inoculés par une suspension bactérienne de la souche testée puis incubés à 37°C dans un bain-marie agité (GFL 1083, Allemagne) pendant 24h. Un témoin positif (Bouillon MSR contenant la bactérie uniquement) a été utilisé pour évaluer la croissance de la bactérie et nous avons utilisé aussi un témoin négatif (milieu MRS contenant 0.2% de chaque poudre testée) (tableau 09).

L'évaluation de la croissance bactérienne a été faite par mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (OPTIZEN). Nous avons réalisé trois essais indépendants.

Tableau 09. Protocole d'évaluation de la croissance de *L. brevis in vitro* en présence des poudres d'écorces d'orange et de citron et la poudre Nor-Spice AB ®.

	Témoin positif	Témoin négatif	Test
Nor-spice AB®	0	0.2%	0.2%
Ecorce d'orange	0	0.2%	0.2%
Ecorce de citron	0	0.2%	0.2%
<i>Lactobacillus brevis</i>	5. 10 ⁵ / ml	0	5. 10 ⁵ / ml
Bouillon MRS	10 ml	10 ml	10 ml

IV. 2. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *Citrus*

IV. 2. 2. 1. Extraction des composés phénoliques totaux

La méthode d'extraction adoptée est la macération par un solvant organique, l'éthanol 70% (v/v)

➤ Principe

Le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide/liquide, dissoudre le composé actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. L'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Ben Ammar, 2008**).

➤ Technique

Dix grammes (10g) de la matière végétale séchée est broyée sont additionnés à 100 ml du solvant (éthanol 70%, Sigma-Aldrich). Après une agitation continue pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité, une filtration est faite sur papier Whatman n°1. Le filtrat obtenu est débarrassé de son solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif (HEIDOLPH, W60) à 70°C afin d'obtenir un extrait sec. Une partie de ce dernier est solubilisée immédiatement dans le sulfoxyde de diméthyle (DMSO) à raison de 250 mg/ml et le reste est conservé dans des flacons opaques à température ambiante (**Ebrahimzadeh et al., 2008**).

IV. 2. 2. 1. 1. Calcul du rendement d'extraction

Le poids en extrait sec est calculé par la différence entre le poids du ballon plein (après élimination du solvant) et le poids du ballon vide.

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante (**Zerroug et al., 2011**) :

$$R\% = (P_F/P_I) \times 100$$

Où :

R : Rendement en pourcentage

P_F : Poids de l'extrait sec

P_I : Poids de la poudre mise à l'extraction

IV. 2. 2. 2. Analyses quantitatives des extraits

IV. 2. 2. 2. 1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux dans les extraits de Nor-Spice AB® et les écorces d'orange et du citron a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu (Singleton et al., 1999).

➤ Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu, de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstène (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdène (H₃PMO₁₂O₄₀). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe d'oxyde de tungstène et de molybdène de couleur bleue. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des composés phénoliques oxydés (Singleton et al., 1999).

➤ Technique

Un volume de 0.5 ml de chaque extrait a été ajouté à 2.5ml de réactif Folin Ciocalteu à 0.2 N (Sigma, Aldrich). Après une incubation de 2 minutes à température ambiante, 1 ml de Na₂CO₃ à 75g/l a été additionné. Le mélange ainsi obtenu est incubé de nouveau pendant 30 min à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre UV visible (Shimadzu) à 760 nm contre un blanc sans extrait.

Une courbe d'étalonnage est préparée parallèlement dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique (BIOCHEM, Chemopharma) comme standard de référence (Annexe 09).

La teneur en composés phénoliques totaux est exprimée en milligramme (mg) Equivalent d'Acide Gallique (mg Equivalent d'Acide gallique (EAG) par gramme du poids de la matière sèche.

Le calcul de cette teneur a été effectué selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

Où

T : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG /g MS).

C : Concentration de l'échantillon déduite à partir de la courbe d'étalonnage.

D : Facteur de dilution.

V : Volume utilisé pour l'extraction (ml).

P : Poids de l'échantillon (broyat) (g).

IV. 2. 2. 2. Dosage des Flavonoïdes

La méthode colorimétrique du trichlorure d'Aluminium $AlCl_3$ légèrement modifiée a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits éthanoliques des écorces du citron et de l'orange ainsi que la poudre Nor-Spice AB® (Bahorun, 1997).

➤ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la formation d'un complexe de couleur jaune entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. La couleur jaune présente une absorption maximale à 430 nm.

➤ Technique

1 ml de l'extrait éthanolique est ajouté à 1 ml d'une solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2%, le mélange est agité immédiatement et vigoureusement puis incubé à l'ombre et à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance du mélange réactionnel est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 430 nm.

La teneur en flavonoïdes totaux est établie à partir d'une courbe d'étalonnage (Annexe 10) préparée avec un flavonoïde standard, la quercétine (Santa Cruz Biotechnology, Dallas).

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalents de Quercétine par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EQ/g MS).

IV. 2. 2. 3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des différents extraits a été évaluée par la méthode de diffusion (méthode des puits)

IV. 2. 2. 3. 1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion

Afin d'évaluer l'effet antibactérien des extraits éthanoliques de Nor-Spice AB® et des écorces d'orange et de citron, nous avons utilisé la méthode de diffusion par puits proposée par Cooper et Woodman en 1946 puis reprise par Shroder et Messing (1949), elle mesure une diffusion radiale de l'extrait à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable.

➤ Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes ayant fait l'objet des tests de sensibilité *in vitro* sont des bactéries isolées à partir du contenu cæcal des poulets de chair utilisés dans l'essai expérimental (*Escherichia coli* et *Enterococcus* sp.) et deux souches de référence :

Escherichia coli ATCC 25922 fournie gracieusement par le laboratoire d'Amélioration et de valorisation des productions animales locales de l'ISV de Tiaret et *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 fournie gracieusement par le laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine vétérinaire de l'université Jordanienne des Sciences et de Technologie.

➤ **Préparation et standardisation des suspensions bactériennes**

A partir de cultures pures et jeunes de 24 heures, des colonies isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et placées dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile. Les suspensions ainsi obtenues sont ajustées au standard 0.5 McFarland puis utilisées à une concentration finale de 1.5×10^6 UFC/ml (Dhanavad et al., 2011).

➤ **Technique**

Les boîtes de Pétri contenant la gélose de Mueller-Hinton (MH) sont ensemencées aseptiquement par écouvillonnage. Cinq puits sont ensuite creusés dans la gélose à l'aide de pipettes Pasteur stériles dont quatre sont remplis chacun avec 60µl d'une concentration bien déterminée de l'extrait et le cinquième puits situé au milieu est rempli avec 60µl d'eau physiologique stérile (témoin négatif) (Dhanavad et al., 2011).

Pour les trois extraits, le screening antibactérien a été effectué avec quatre concentrations (500, 250, 125 et 62,5 mg/ml) préparées dans l'eau physiologique stérile.

Les boîtes sont ensuite pré-incubées pendant 10 minutes à température ambiante pour permettre la diffusion de l'extrait avant d'être incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

La lecture se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des puits. Les essais ont été réalisés trois fois.

IV. 3. Analyse statistique

L'analyse statistique des données est effectuée par le test d'analyse de la variance (ANOVA) avec le test post-hoc de tukey par le logiciel GraphPad Prism 2016 v7.05 (GraphPad software, Inc, USA).

Les différences sont considérées comme (*) Significatives lorsque ($P < 0,05$); (**) Très significatives lorsque ($P < 0,01$) ; (***) hautement significatives lorsque ($P < 0,001$).

RESULTS ET DISCUSSION



V.1. Résultats

V.1.1. Résultats de l'essai expérimental

V.1.1.1. Effets des différents additifs alimentaires sur les performances zootechniques

V.1.1.1.1. Effet sur la consommation alimentaire

Les consommations alimentaires obtenues chez les différents groupes expérimentaux sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 10. Effet des différents additifs alimentaires sur la consommation alimentaire chez le poulet de chair.

Consommation alimentaire (g/sujet)	Période	Groupes expérimentaux				
		TEM	AVMY	NSAB	PEC	PEO
	Démarrage (J1- J21)	1138	1023	1081	1056	1165
	Croissance (J22- J42)	3027	3141	3357	3012	3196
	Totale (J1-J42)	4165	4164	4439	4068	4361

Les résultats relatifs à la consommation alimentaire ne montrent aucune différence significative ($P > 0.05$) entre les groupes recevant un aliment supplémenté et le groupe témoin. De même, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes recevant des additifs alimentaires durant les deux phases de l'essai (démarrage et croissance).

V. 1. 1. 2. Effet sur le gain moyen quotidien (GMQ)

Les gains moyens quotidiens obtenus chez les différents groupes expérimentaux sont consignés dans le tableau 11. Aucune différence significative n'a été notée entre les différents groupes pendant toutes les phases de l'expérimentation.

Tableau 11. Effets des différents additifs alimentaires sur le gain moyen quotidien des poulets de chair.

Gain moyen quotidien (g/j)	Période	Groupes expérimentaux				
		TEM	AVMY	NSAB	PEC	PEO
	Démarrage (J1- J21)	31,81	29,97	28,96	28,78	31,59
	Croissance (J22- J42)	57,79	62,17	61,46	60,53	61
	Totale (J1-J42)	44,8	46,07	45,21	44,66	46,29

V. 1. 1. 1. 3. Effet sur l'indice de consommation (IC)

Les résultats relatifs aux indices de consommation alimentaire chez les différents groupes expérimentaux sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12. Effets des différents régimes alimentaires sur l'indice de consommation (IC) des poulets de chair.

Indice de consommation	Période	Groupes expérimentaux				
		TEM	AVMY	NSAB	PEC	PEO
	Démarrage (J1- J21)	1,52	1,55	1,59	1,56	1,61
	Croissance (J22- J42)	2,2	2,13	2,15	2,14	2,17
	Totale (J1-J42)	1,97	1,89	1,92	1,94	1,96

Les résultats obtenus montrent une légère amélioration de l'indice de consommation pour tous les groupes supplémentés en comparaison avec le groupe témoin. En effet, une amélioration de 4,06% a été enregistrée pour le groupe recevant l'antibiotique facteur de croissance (avilamycine), des taux d'amélioration de 2,53%, 1,52 % et 0,5 % ont été enregistrés pour les groupes recevant des aliments supplémentés avec Nor-Spice AB®, la poudre d'écorce de citron et la poudre d'écorce d'orange, respectivement.

V. 1. 1. 1. 4. Effet sur le poids vif moyen

Les résultats de l'effet des différents additifs alimentaires sur le poids vif des sujets sont illustrés dans la figure 09. Ces résultats montrent une augmentation très significative ($P < 0.01$) du poids des sujets recevant l'aliment supplémenté avec Nor-Spice AB® ($2312 \pm 195,86$ g) en comparaison avec le groupe témoin ($2114 \pm 119,69$ g).

De même, l'incorporation de Nor-Spice AB® dans l'alimentation des poulets de chair a augmenté leur poids d'une manière hautement significative ($P < 0.001$) en comparaison avec le groupe soumis au régime contenant la poudre d'écorce de citron ($2096,66 \pm 92,11$ g). Parallèlement, une augmentation significative du poids ($P < 0.05$) a été observée chez les sujets recevant la poudre d'écorce d'orange ($2225 \pm 210,09$ g) en comparaison avec le groupe recevant la poudre d'écorce de citron comme additif.

En revanche, aucune différence significative n'a été observée chez le groupe recevant l'antibiotique facteur de croissance en comparaison avec les autres groupes y compris le témoin.

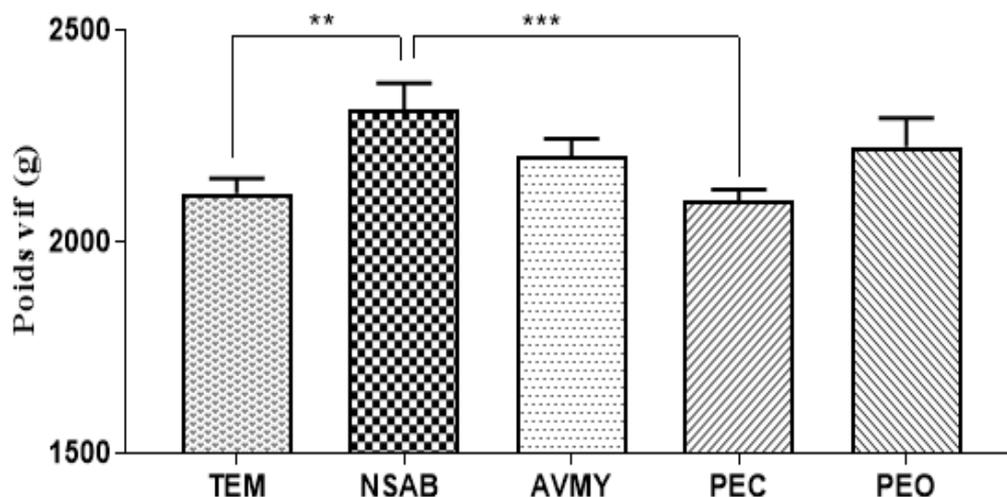


Figure 09. Effet des différents régimes alimentaires sur le poids vif des poulets de chair à la fin de la période expérimentale.

V. 1. 1. 1. 5. Effets sur le rendement de carcasse (RC)

Les résultats relatifs à l'effet de la supplémentation alimentaire sur le rendement des carcasses sont présentés dans la figure 10.

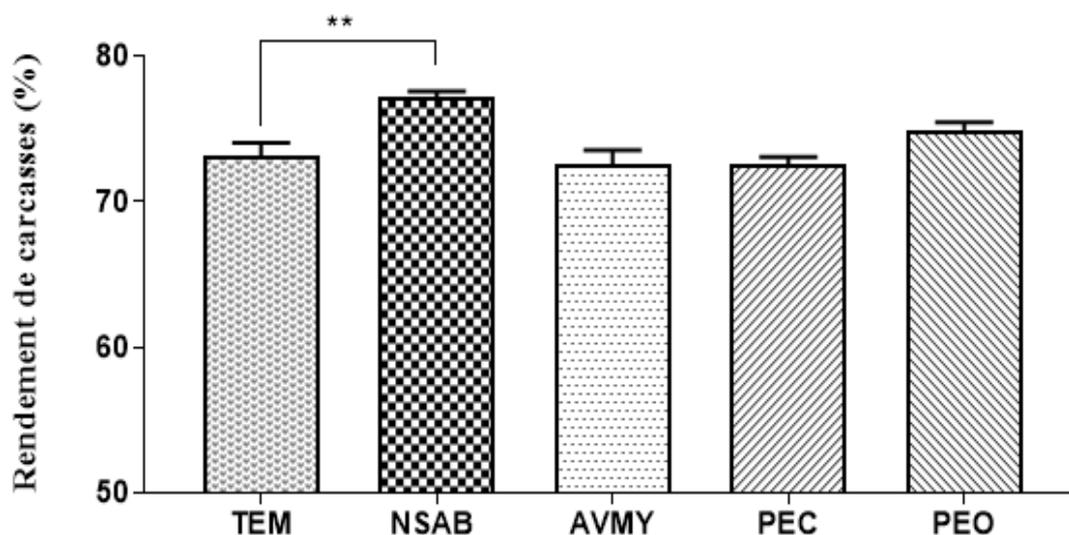


Figure 10. Effet des différents régimes alimentaires sur le rendement de carcasses des poulets à la fin de l'essai

Les résultats de la figure ci-dessus montrent que l'incorporation du concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®) dans l'alimentation a très significativement ($P < 0.01$) augmenté le rendement de carcasses ($77,16 \pm 1,48\%$) en comparaison avec le groupe témoin ($73,12 \pm 3,19\%$).

L'utilisation de Nor-Spice AB® dans l'alimentation a entraîné ainsi une augmentation très significative ($P < 0.001$) du rendement des carcasses ($77,16 \pm 1,48\%$) par rapport aux groupes recevant la poudre d'écorce de citron ($72,58 \pm 1,76\%$) et l'avilamycine ($72,60 \pm 2,66\%$).

Une augmentation légèrement significative ($P < 0.05$) du rendement des carcasses a été observée chez le groupe recevant l'aliment supplémenté avec la poudre d'écorce d'orange ($74,92 \pm 1,79\%$) en comparaison avec le groupe recevant l'antibiotique ($72,60 \pm 2,66\%$).

V. 1. 1. 6. Effet sur le poids des organes

Le tableau 13 résume les résultats de l'effet des différents régimes expérimentaux sur les poids absolus des organes internes.

Tableau 13. Poids absolu des organes internes (moyenne \pm écart type) des poulets recevant un aliment standard ou un aliment supplémenté

Poids des Organes (g)	Groupes expérimentaux				
	TEM	AVMY	NSAB	PEC	PEO
Proventricule	10,67 \pm 1,87	8,67 \pm 1,3*	10,17 \pm 1,80	10,67 \pm 2,31	9,17 \pm 2,08*
Gésier	68 \pm 5,98	65,67 \pm 8,48	70,83 \pm 8,93	72,58 \pm 10,17	71,08 \pm 19,47
Cœur	12,75 \pm 2,49	10,17 \pm 2,21*	10,25 \pm 1,86*	10,67 \pm 1,72*	11 \pm 2,70*
Foie	56,83 \pm 8,56	53,17 \pm 8,23	54,5 \pm 7,57	53,42 \pm 9,52	52,67 \pm 9,22
Pancréas	6,08 \pm 2,02	5,75 \pm 1,76	6,17 \pm 0,94	5,92 \pm 2,27	5,33 \pm 1,44
Rate	3,58 \pm 1,51	3,17 \pm 0,72	2,83 \pm 1,03	2,67 \pm 0,78*	2,42 \pm 1,38***

Aucune différence significative dans le poids du gésier, du foie et du pancréas n'a été notée entre les différents groupes de l'essai. Les poulets recevant l'additif antibiotique ont montré une diminution significative ($P < 0.05$) du poids absolu du proventricule ($8,67 \pm 1,3$ g) en comparaison avec le groupe témoin ($10,67 \pm 1,87$ g), le groupe recevant Nor-Spice AB® ($10,17 \pm 1,80$ g) et le groupe supplémenté avec la poudre d'écorce de citron ($10,67 \pm 2,31$ g).

Une diminution significative ($P < 0.05$) du poids du proventricule a été aussi observée chez les poulets recevant l'aliment supplémenté avec la poudre d'écorce d'orange en comparaison avec le groupe témoin et le groupe recevant la poudre d'écorce de citron ($9,17 \pm 2,08$ g vs $10,67 \pm 1,87$ g et $10,67 \pm 2,31$ g ; respectivement).

Le poids du cœur a diminué significativement ($P < 0.05$) chez les groupes recevant l'additif antibiotique ($10,17 \pm 2,21$ g), Nor-Spice AB® ($10,25 \pm 1,86$ g) ou les poudres des écorces d'orange ($11 \pm 2,70$ g) et citron ($10,67 \pm 1,72$ g) en comparaison avec le groupe témoin ($12,75 \pm 2,49$ g).

L'incorporation de la poudre d'écorce d'orange dans l'alimentation des poulets a entraîné une diminution hautement significative ($P < 0.001$) du poids de la rate ($2,42 \pm 1,38$ g) en comparaison avec le groupe témoin ($3,58 \pm 1,51$ g). De même, le poids de la rate a diminué significativement ($P < 0.05$) chez le même groupe (poudre d'écorce d'orange) en comparaison avec les groupes recevant l'avilamycine ($3,17 \pm 0,72$ g) et Nor-Spice AB® ($2,83 \pm 1,03$).

Ainsi, l'incorporation de la poudre d'écorce de citron dans l'alimentation a entraîné une diminution significative du poids de la rate ($P < 0.05$) par rapport au groupe témoin ($2,67 \pm 0,78$ g vs $3,58 \pm 1,51$ g, respectivement).

V. 1. 1. 1. 7. Effet sur la longueur intestinale

Les résultats de l'effet des différents additifs alimentaires sur la longueur des intestins des poulets sont représentés dans la figure ci-dessous :

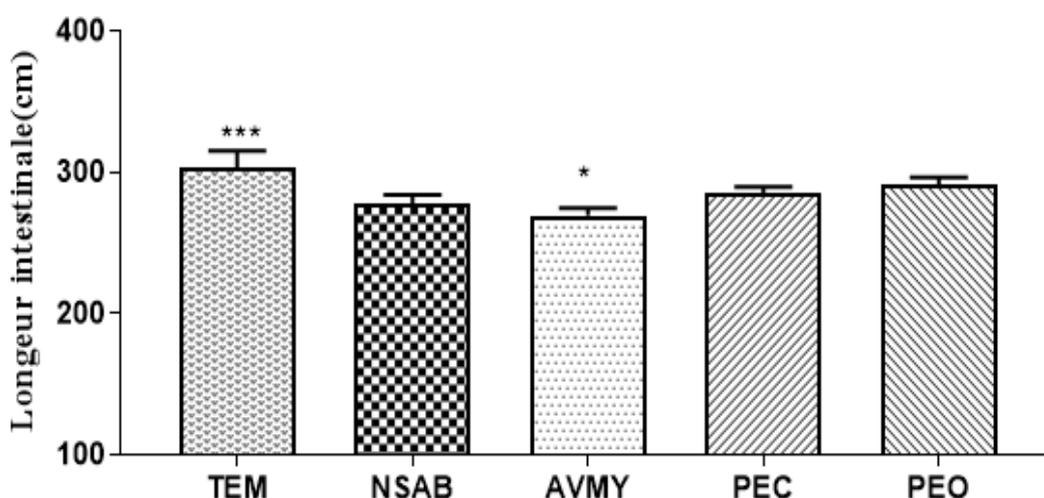


Figure 11. Effet des différents additifs alimentaires sur la longueur des intestins des poulets à la fin de l'essai.

Les résultats de la figure ci-dessus montrent une diminution hautement significative ($P < 0.001$) de la longueur des intestins des poulets recevant l'additif antibiotique ($269,3 \pm 17,35$ cm) en comparaison avec le groupe témoin ($302,8 \pm 18,42$ cm)

V. 1. 1. 2. Mortalité

La mortalité cumulée pour chaque période de l'essai est rapporté dans le tableau suivant :

Tableau 14. Taux de mortalité des poulets recevant un aliment standard ou supplémenté pendant la période expérimentale

Période	Groupes expérimentaux				
	TEM	AVMY	NSAB	PEC	PEO
Démarrage (J1-J21)	03	02	02	03	01
Croissance (J21-J42)	0	0	01	00	01
Mortalité cumulée	03	02	03	03	02
Taux de mortalité (%)	2,25	1,5	2,25	2,25	1,5

D'après les résultats du tableau ci-dessus, le nombre total de sujets morts est 13 pendant toute la période de l'essai (soit un taux de 1,95%) dont un grand nombre (11) pendant les deux premières semaines de la phase de démarrage. En revanche, aucun cas de mortalité n'a été noté pendant la phase de croissance pour le groupe témoin et les groupes recevant l'additif antibiotique et la poudre d'écorce de citron. Par contre, nous avons enregistré un cas de mortalité dans le groupe recevant Nor-Spice AB[®] et un autre cas dans le groupe recevant la poudre d'écorce d'orange pendant la même phase (croissance). Ces faibles taux de mortalité semblent refléter une meilleure santé des animaux probablement induite par l'effet des différents additifs. Ainsi, Il est important de souligner l'absence de coccidiose clinique chez tous les groupes et ceci est probablement dû à l'efficacité de l'incorporation de l'anticoccidien naturel Norponin XO₂ dans l'aliment. Nous avons ainsi remarqué l'absence d'odeur d'ammoniaque dans le bâtiment d'élevage durant toute la période expérimentale.

V. 1. 1. 3. Effets des différents régimes alimentaires sur les paramètres biochimiques

V. 1. 1. 3. 1. Effet sur la concentration plasmatique moyenne du cholestérol

Les résultats de l'effet des différents régimes alimentaires sur la concentration plasmatique du cholestérol total chez les poulets sont illustrés dans la figure 12.

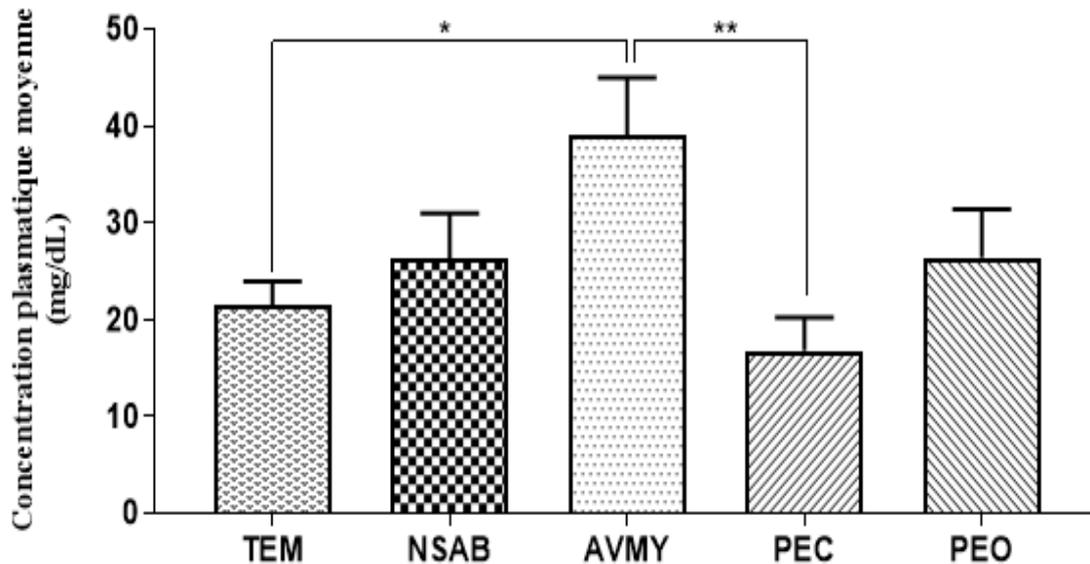


Figure 12. Effet des différents additifs alimentaires sur la concentration plasmatique du cholestérol total chez les poulets à la fin de la période d'essai.

D'après les résultats de la figure 12, aucune différence significative ($P > 0.05$) dans la concentration plasmatique moyenne du cholestérol total n'a été notée entre le groupe témoin ($25,52 \pm 3,28$ mg/dL) et les groupes supplémentés en agrumes (NSAB, PEC et PEO).

Une hypercholestérolémie par contre a été notée chez le groupe recevant l'additif antibiotique ($39,05 \pm 7,81$ mg/dL). Cette augmentation est significative ($P < 0.05$) en comparaison avec le groupe témoin ($25,52 \pm 3,28$ mg/dL) et très significative ($P < 0.01$) en comparaison avec le groupe recevant la poudre d'écorce de citron ($16,8 \pm 10,9$ mg/dL).

V. 1. 1. 3. 2. Effet sur la concentration plasmatique des triglycérides

Les résultats de l'effet des différents régimes alimentaires sur la concentration plasmatique des triglycérides chez les poulets recevant un aliment standard ou un aliment supplémenté sont représentés dans la figure 13 :

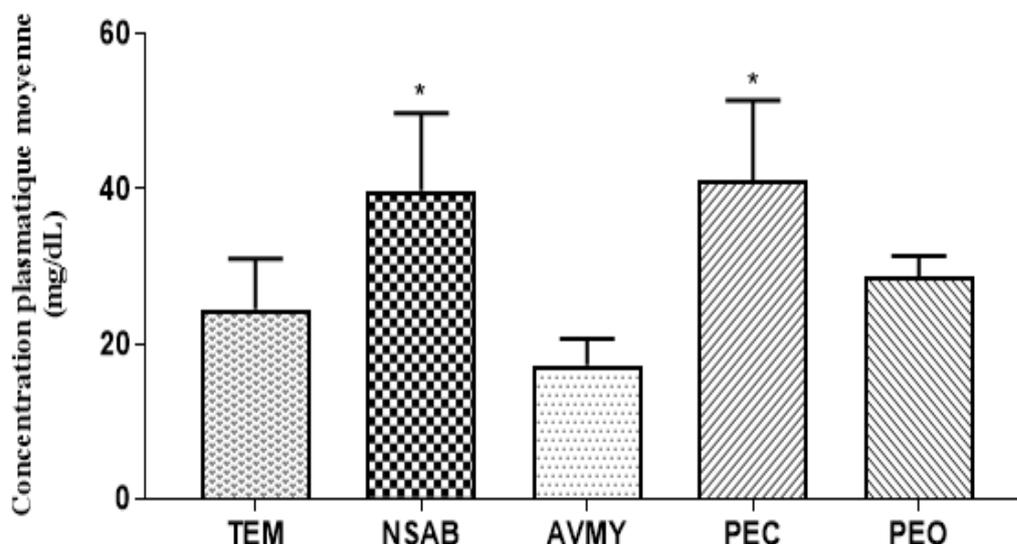


Figure 13. Effet des différents additifs alimentaires sur la concentration plasmatique des Triglycérides à la fin de la période d'essai.

Les résultats de la figure 13 montrent une augmentation significative ($P < 0.05$) de la concentration plasmatique moyenne des triglycérides chez les groupes recevant le concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®) et la poudre d'écorce de citron ($33,6 \pm 11,92$ mg/dL et $37,81 \pm 10,80$ mg/dL, respectivement) en comparaison avec le groupe témoin ($24,5 \pm 10,52$ mg/dL) et le groupe recevant l'antibiotique ($17,23 \pm 10,23$ mg/dL).

V. 1. 1. 3. 3. Effet sur la concentration plasmatique moyenne du glucose

Les données relatives à l'effet des différents traitements alimentaires sur la concentration plasmatique du glucose chez les poulets de chair sont illustrées dans la figure 14.

Ces résultats montrent une diminution hautement significative ($P < 0.0001$) de la concentration plasmatique moyenne du glucose chez tous les groupes recevant un aliment supplémenté avec l'antibiotique ($146, \pm 48,2$ mg/dL), Nor-Spice AB® ($119,9 \pm 37,3$ mg/dL), la poudre d'écorce de citron ($117,7 \pm 42,05$ mg/dL) ou la poudre d'écorce d'orange ($155,4 \pm 47,82$ mg/dL) en comparaison avec le groupe témoin ($257,5 \pm 44,8$ mg/dL).

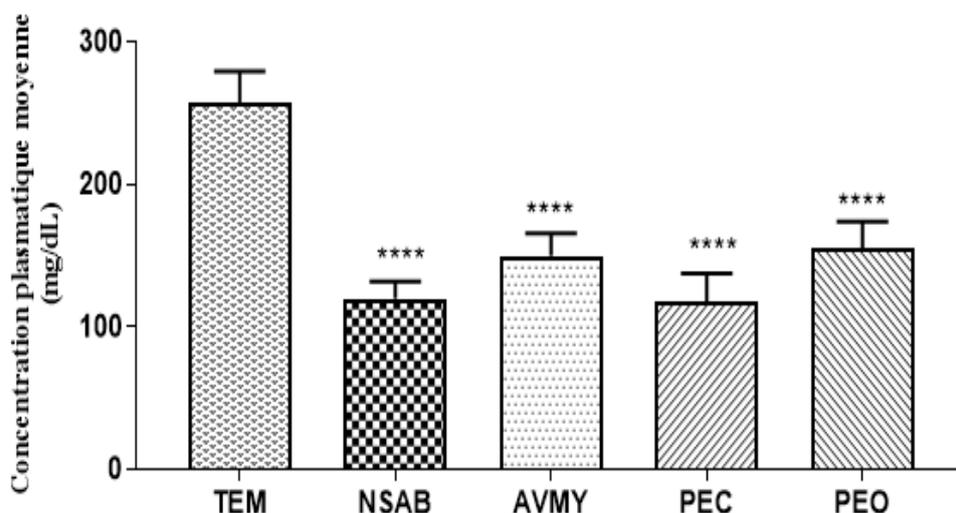


Figure 14. Effet des différents additifs alimentaires sur la concentration plasmatique du glucose chez les poulets à la fin de la période d'essai.

V. 1.1. 4. Effets des différents régimes alimentaires sur la flore cœcale

V.1.1.4.1. Effet sur la population bactérienne cœcale à la fin de la phase de démarrage

Le tableau 15 résume les résultats de l'effet de la supplémentation alimentaire en phase de démarrage sur les populations bactériennes d'*Escherichia coli*, *Enterococcus* sp. et *Lactobacillus* sp.

Tableau 15. Effet des différents régimes alimentaires sur la population bactérienne cœcale (moyenne \pm écart type) à la fin de la phase de démarrage (J21)

Groupe	Population bactérienne (log 10 UFC/g)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus</i> sp.	<i>Lactobacillus</i> sp.
TEM	6,21 \pm 0,41	8,60 \pm 1,21	7,08 \pm 0,36
AVMY	6,17 \pm 0,43	8,53 \pm 1,47	6,48 \pm 0,61
NSAB	4,84 \pm 0,74*	5,82 \pm 0,54****	6,07 \pm 0,42**
PEC	5,23 \pm 0,49	5,35 \pm 1,49****	7,10 \pm 0,52
PEO	4,19 \pm 0,81*	4,69 \pm 0,65****	6,79 \pm 0,56

Les résultats de l'examen bactériologique par comptage des colonies sur milieux sélectifs ont révélé des variations significatives dans les populations bactériennes isolées du contenu cœcale à la fin de la phase de démarrage (J21).

Une diminution significative de la population cœcale des colibacilles ($P < 0.05$) a été observée chez le groupe recevant un aliment supplémenté avec Nor-Spice AB® ($4,84 \pm 0,74 \log_{10}$ UFC/g) et le groupe supplémenté avec la poudre d'écorce d'orange ($4,19 \pm 0,81 \log_{10}$ UFC/g) en comparaison avec le groupe témoin ($6,21 \pm 0,41 \log_{10}$ UFC/g).

Une diminution hautement significative ($P < 0.0001$) du nombre des entérocoques a été observée chez tous les groupes recevant le concentré d'agrumes ($5,82 \pm 0,54 \log_{10}$ UFC/g), la poudre d'écorce de citron ($5,35 \pm 1,49 \log_{10}$ UFC/g) et la poudre d'écorce d'orange ($4,69 \pm 0,65 \log_{10}$ UFC/g) en comparaison avec le groupe témoin ($8,60 \pm 1,21 \log_{10}$ UFC/g) et le groupe recevant l'antibiotique ($8,53 \pm 1,47 \log_{10}$ UFC/g).

Le nombre des lactobacilles a diminué de façon très significative ($P < 0.01$) chez les poulets nourris d'un aliment standard supplémenté avec Nor-Spice AB® en comparaison avec les poulets recevant l'aliment standard sans additif ($6,07 \pm 0,42$ vs $7,08 \pm 0,36 \log_{10}$ UFC/g).

V.1.1.4.2. Effet sur la population bactérienne cœcale à la fin de la phase de croissance

Les résultats correspondants à l'effet des différents régimes alimentaires sur les populations bactériennes d'*Escherichia coli*, *Enterococcus* sp. et *Lactobacillus* sp. dans le contenu cœcal des poulets à la fin de la période de croissance sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 16. Effet des différents régimes alimentaires sur la population bactérienne cœcale (moyenne \pm écart type) à la fin de la phase de croissance J42.

Groupe	Population bactérienne (Log10 UFC/g)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus</i> sp.	<i>Lactobacillus</i> sp.
TEM	$4,53 \pm 0,56$	$5,81 \pm 0,70$	$7,03 \pm 0,55$
AVMY	$3,84 \pm 0,49^*$	$4,41 \pm 0,36^{****}$	$6,89 \pm 0,46$
NSAB	$3,17 \pm 0,29^*$	$5,88 \pm 0,51$	$6,57 \pm 0,36$
PEC	$4,34 \pm 0,99$	$4,69 \pm 0,50^{***}$	$6,87 \pm 0,42$
PEO	$4,20 \pm 0,67$	$6,85 \pm 0,74^{***}$	$6,85 \pm 0,40$

D'après les résultats du tableau 17, une diminution significative ($P < 0.05$) du nombre d'*Escherichia coli* a été observée chez les groupes recevant Nor-Spice AB® ($3,17 \pm 0,29 \log_{10}$ UFC/g) et l'additif antibiotique ($3,84 \pm 0,49 \log_{10}$ UFC/g) en comparaison avec le groupe témoin ($4,53 \pm 0,56 \log_{10}$ UFC/g).

L'incorporation de l'avilamycine dans l'alimentation des poulets pendant la phase de croissance a entraîné une réduction hautement significative ($P < 0.0001$) du nombre des entérocoques dans le cæcum ($4,41 \pm 0,36 \log_{10}$ UFC/g) en comparaison avec le groupe témoin ($5,81 \pm 0,70 \log_{10}$ UFC/g). De même, une diminution hautement significative ($P < 0.001$) de la même population bactérienne (entérocoques) a été observée chez le groupe recevant la poudre d'écorce de citron ($4,69 \pm 0,50 \log_{10}$ UFC/g) en comparaison avec le groupe non supplémenté.

A l'inverse, l'incorporation de la poudre d'écorce d'orange dans l'alimentation a entraîné une augmentation hautement significative ($P < 0.001$) du nombre des entérocoques dans le cæcum en comparaison avec le groupe témoin ($6,85 \pm 0,74$ vs $5,81 \pm 0,70 \log_{10}$ UFC/g).

Aucune variation significative ($P > 0.05$) du nombre des lactobacilles n'a été observée entre le groupe témoin et les groupes recevant un additif alimentaire.

V.1. 2. Résultat de l'essai *in vitro*

V.1. 2. 1. Croissance de *Lactobacillus brevis* en présence des poudres de *Citrus*

La croissance de *L. brevis* en présence de 0.2% de la poudre Nor-Spice AB®, 0.2% de la poudre d'écorce de citron ou 0.2% de la poudre d'écorce d'orange est présentée dans la figure suivante :

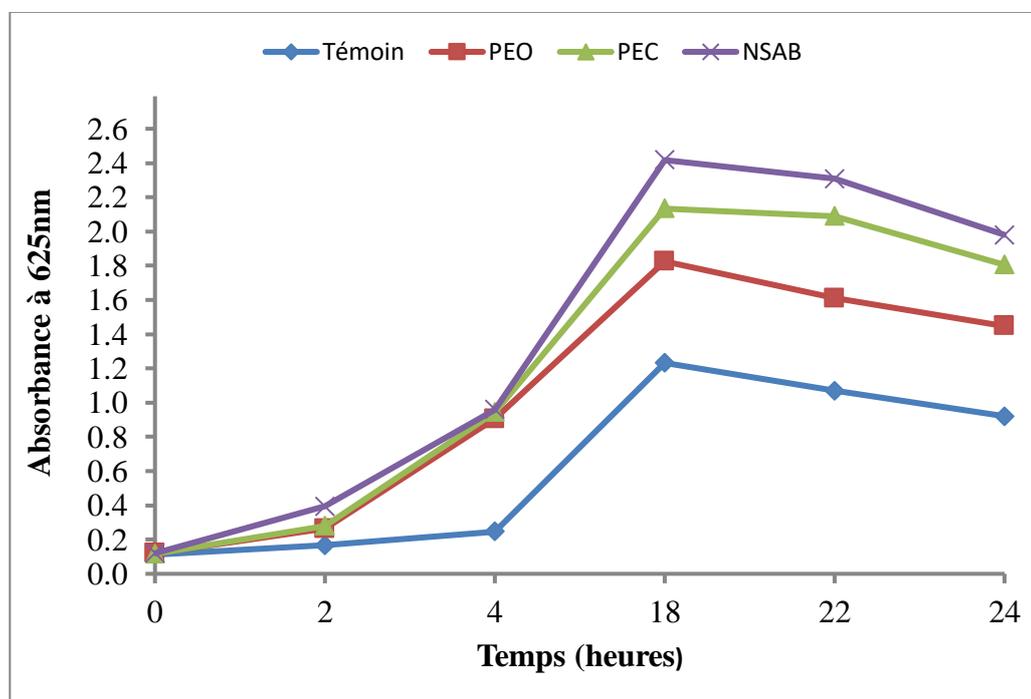


Figure 15. Croissance de *Lactobacillus brevis* en présence de 0.2% de la poudre de *Citrus*.

Les résultats de l'évaluation de la croissance des souches de *Lactobacillus brevis* par mesure de l'absorbance à 625 nm indiquent que tous les milieux présentent des potentiels de croissance intéressants durant les 24 heures d'incubation à 37°C.

Les courbes de croissance représentées dans la figure 15 montrent un schéma classique de croissance bactérienne limitée dans un milieu non renouvelé. En effet, cette croissance est caractérisée par une phase exponentielle atteignant son apogée après 18h de fermentation avec des valeurs de D.O maximales allant de $1,242 \pm 0.023$ à 2.427 ± 0.052 , ce qui reflète l'assimilation des substrats nutritifs présents dans tous les milieux (MRS témoin et MRS supplémentés).

La meilleure croissance de la souche a été constatée sur le milieu MRS contenant 0.2% de Nor-Spice AB® ; elle est supérieure à 95.41% que la croissance observée sur le milieu témoin. Au-delà de 18 heures, on distingue une phase stationnaire caractérisée par une légère diminution de la croissance bactérienne sur le milieu témoin (D.O= 0.930 ± 0.079) et tous les milieux contenant un supplément où les valeurs de D.O ont diminué à 1.457 ± 0.236 sur le milieu contenant la PEO, à 1.817 ± 0.147 sur le milieu contenant la PEC et à 1.993 ± 0.096 sur le milieu contenant la poudre NSAB.

V. 1. 2. 2. Extraction et quantification des composés phénoliques

V. 1. 2. 2. 1. Rendement d'extraction

Les rendements obtenus après extraction des composés phénoliques de la poudre d'écorce d'orange, de la poudre d'écorce du citron et de la poudre du concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®) en utilisant l'éthanol à 70% sont illustrés dans la figure 16. Ils sont exprimés en pourcentage massique.

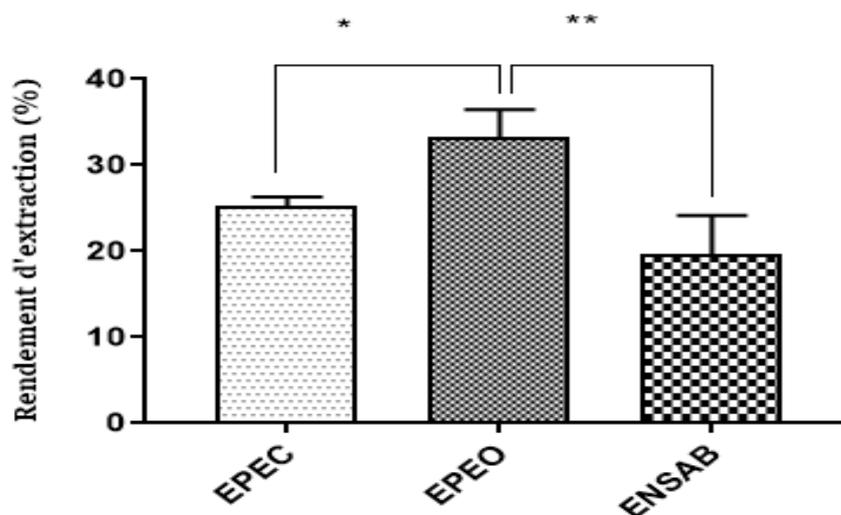


Figure 16. Rendements en extraits bruts obtenus à partir de la poudre Nor-Spice AB® et les poudres des écorces de citron et d'orange.

Le calcul des rendements pour les trois extraits phénoliques par rapport au poids total du broyat montre un rendement significativement ($P < 0.05$) supérieur de l'extrait brut de la poudre d'écorce d'orange ($33,25 \pm 3,18\%$) par rapport à l'extrait brut de la poudre d'écorce du citron ($25,25 \pm 1,06\%$). De même, le rendement en extrait sec était très significativement ($P < 0.01$) élevé pour la poudre d'écorce d'orange en comparaison avec la poudre Nor-Spice AB® ($33,25 \pm 3,18\%$ vs $19,70 \pm 4,46\%$).

V.1. 2. 2. 2. Dosage des composés phénoliques totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux pour les trois extraits étudiés sont illustrés dans la figure 17.

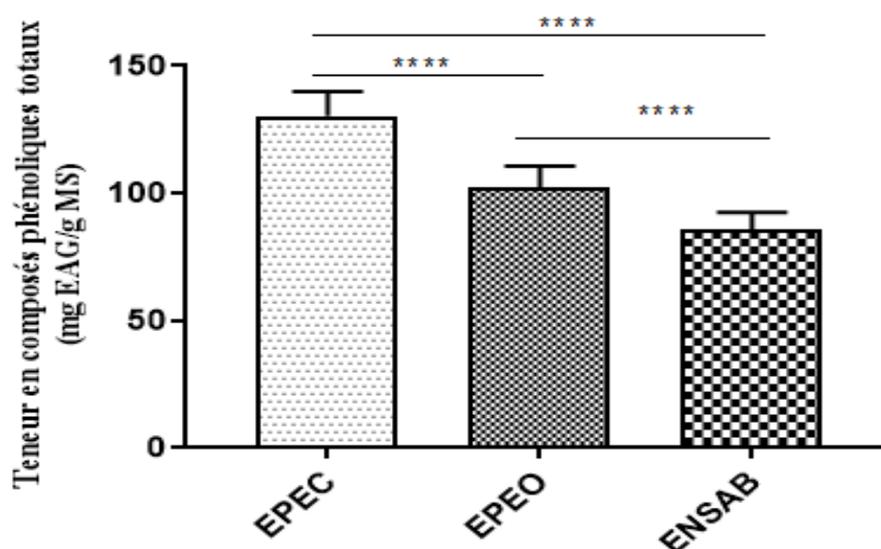


Figure 17. Teneurs en composés phénoliques totaux pour les extraits de Nor-Spice AB®, la poudre d'écorce d'orange et la poudre d'écorce de citron.

Les résultats obtenus montrent une variabilité hautement significative ($P < 0.0001$) des teneurs en composés phénoliques totaux pour les trois extraits. En effet, la teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait de la poudre d'écorce de citron ($133,63 \pm 10,08$ mg EAG/g MS) suivie par l'extrait de la poudre d'écorce d'orange avec une teneur de $100,97 \pm 4,68$ mg EAG/g MS puis de l'extrait de Nor-Spice AB® avec une teneur de $85,93 \pm 6,50$ mg EAG/g MS.

V.1. 2. 2. 3. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les trois extraits de *Citrus* sont représentées dans la figure 18. Les résultats obtenus montrent des teneurs rapprochées en flavonoïdes dans les extraits des poudres des écorces de l'orange et du citron avec des valeurs de $22,65 \pm 0,73$ mg

EQ/g MS et $21,49 \pm 0,32$ mg EQ/gMS, respectivement. Une teneur en flavonoïdes hautement inférieure ($P < 0,0001$) a été enregistrée pour l'extrait de Nor-Spice AB® ($10,67 \pm 0,51$ mg EQ/ g MS) en comparaison avec les deux extraits cités précédemment.

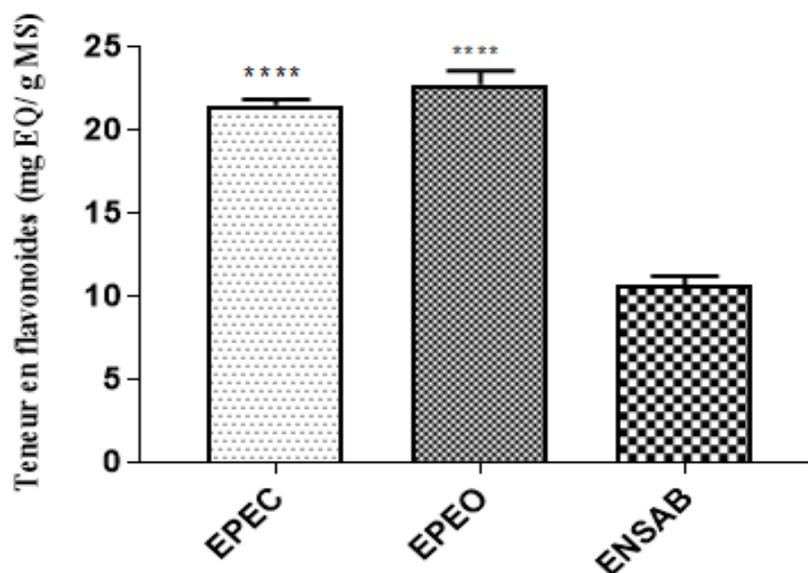


Figure 18. Teneurs en flavonoïdes pour les extraits de Nor-Spice AB®, la poudre d'écorce d'orange et la poudre d'écorce de citron.

V. 1. 2. 3. Activité antibactérienne

V. 1. 2. 3. 1. Tests de confirmation des souches étudiées

Les résultats de l'examen microscopique et des tests biochimiques utilisés pour identifier les souches utilisées dans les tests de sensibilité antibactérienne sont résumés dans le tableau 17.

Tableau 17. Identification microscopique et biochimique des souches testées

Souche bactérienne	Examen microscopique		Examen biochimique	
	Forme	Gram	Catalase	Oxydase
<i>Enterococcus</i> sp.	coques	+	-	-
<i>Escherichia coli</i>	coccobacille	-	+	-

V.1. 2. 3. 2. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion

V.1. 2. 3. 2. 1. Effet antibactérien de l'extrait d'écorce d'orange

Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique de l'écorce d'orange sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 18. Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait d'écorce d'orange (*C. sinensis* L.) sur les souches bactériennes testées

Concentration de l'extrait (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des Bactéries à Gram+		Diamètres des zones d'inhibition (mm) des Bactéries à Gram-	
	<i>Enterococcus</i> sp.	<i>E.faecalis</i> ATCC 19433	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 29522
500	13±1,87	14± 2,82	11,50±0,70	
250	7±0,55	10,5±0,7	-	-
125	-	-	-	-
62,5	-	-	-	-

Les résultats du tableau ci-dessus montrent un effet inhibiteur dose dépendant de l'extrait de l'écorce d'orange contre les deux souches d'*Enterococcus* aux plus fortes concentrations utilisées (500 et 250 mg/ml).

La souche de référence *Enterococcus* ATCC 19433 est légèrement plus sensible que la souche isolée du contenu cæcal des poulets avec des zones d'inhibition de 14± 2,82 mm vs 13±1,87mm à 500 mg/ml et de 10,5±0,7 vs 7±0,55 mm à 250 mg/ml ; respectivement.

En comparaison avec les bactéries à Gram positif, les résultats de la figure 20 montrent que les bactéries à Gram négatif sont moins sensibles voire même résistantes à l'extrait de l'écorce d'orange. En effet, la souche d' *E.coli* isolée à partir du contenu cæcal est sensible uniquement à la concentration de 500 mg/ml avec un diamètre de 11,50±0,70 mm. Par contre, la souche *E.coli* de référence est résistante à toutes les concentrations utilisées (**Annexe 11**).

V. 1. 2. 3. 2. 2. Effet antibactérien de l'extrait d'écorce de citron

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait phénolique de l'écorce de citron sont présentés dans le tableau 19.

Tableau 19. Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait d'écorce d'orange (*C. limonum* L.) sur les souches bactériennes testées

Concentration de l'extrait (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des Bactéries à Gram+		Diamètres des zones d'inhibition (mm) des Bactéries à Gram-	
	<i>Enterococcus</i> sp.	<i>E.faecalis</i> ATCC 19433	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 29522
500	19±1,41	12±1,25	08	08
250	12±1,50	7,5±0,5	-	-
125	7,66±0,55	-	-	-
62,5	-	-	-	-

Les résultats du tableau 19 montrent une sensibilité de *la souche Enterococcus sp.* à l'extrait de l'écorce de citron avec des diamètres d'inhibition proportionnels aux concentrations correspondantes utilisées ($19\pm 1,41$ mm à 500 mg/ml, $12\pm 1,50$ mm à 250 mg/ml et $7,66\pm 0,55$ mm à 125 mg/ml).

Enterococcus faecalis est moins sensible à l'extrait de citron avec des zones d'inhibition de $12\pm 1,25$ mm à 500 mg/ml et de $7,5\pm 0,5$ mm à 250 mg/ml.

Les résultats obtenus montrent une résistance extrême des deux souches d'*Escherichia coli* avec absence totale des zones d'inhibition à toutes les concentrations testées excepté une légère zone d'inhibition observée à la plus forte concentration (**Annexe 12**).

V.1. 2. 3. 2. 3. Effet antibactérien de l'extrait de Nor-Spice AB®

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la poudre Nor-Spice AB® contre les souches testées sont illustrés dans le tableau 20.

Tableau 20. Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait de Nor-Spice AB® sur les souches bactériennes testées

Concentration de l'extrait (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des Bactéries à Gram+		Diamètres des zones d'inhibition (mm) des Bactéries à Gram-	
	<i>Enterococcus sp.</i>	<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 29522
500	$18,67\pm 1,15$	$14\pm 2,82$	$12,67\pm 2,52$	$17,20\pm 1,09$
250	$14,33\pm 2,08$	$10,5\pm 0,7$	10,33	$12,26\pm 0,65$
125	-	-	$8,67\pm 0,58$	-
62,5	-	-	-	-

Les résultats du tableau ci-dessus montrent une sensibilité modérée des bactéries à Gram positif à l'extrait de Nor-Spice AB®. En effet les deux souches d'*Enterococcus* sont sensibles uniquement aux plus fortes concentrations utilisées (500 et 250 mg/ml) avec un effet inhibiteur dose dépendant plus marqué contre *Enterococcus sp.* ($18,67\pm 1,15$ à 500 mg/ml et $14,33\pm 2,08$ à 250 mg/ml). Un effet inhibiteur de l'extrait était observé contre les isolats d'*Escherichia coli* à toutes les concentrations à l'exception de la plus faible concentration (62,5 mg/ml) avec des zones d'inhibition légères allant de $8,67\pm 0,58$ mm à $12,67\pm 2,52$ mm. La souche de référence (*E. coli* ATCC 29522) est sensible aux plus fortes concentrations de l'extrait avec des zones d'inhibition de $17,20\pm 1,09$ mm à 500 mg/ml et $12,26\pm 0,65$ mm à 250 mg/ml et résistante aux plus faibles concentrations (**Annexe 13**).

V. 2. DISCUSSION

Diverses plantes, herbes et épices sont utilisées sous forme de produits bruts ou d'extraits dans l'alimentation des volailles pour améliorer leurs performances de croissance et la qualité de leurs produits. Cependant, beaucoup d'études portant sur l'utilisation de ces phytogéniques comme facteurs de croissance chez le poulet de chair montrent des résultats contradictoires et des effets variables en fonction de la dose d'administration, la composition du régime de base, les pratiques d'élevage, l'état sanitaire des oiseaux, les conditions environnementales, la durée de l'élevage, l'âge, le sexe et la race des oiseaux (Kirbaşlar et al., 2009 ; Nunes et al., 2012).

V. 2. 1. Effets de la supplémentation alimentaire sur les performances de croissance des poulets de chair

Aucune différence significative n'a été enregistrée pour le gain de poids, la prise alimentaire et l'indice de consommation entre les différents groupes expérimentaux au cours des différentes phases de l'essai.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Agu et al. (2010)** qui ont noté que la substitution du maïs par différentes doses de la poudre d'écorce d'orange (*Citrus sinensis*) chez le poulet de chair n'a pas entraîné des variations significatives de la consommation alimentaire, le gain de poids ou l'indice de consommation durant les deux phases de l'essai. Nos résultats sont aussi similaires à ceux obtenus par **Akbarian et al. (2013b)** qui ont observé que l'incorporation des extraits des écorces de citron (*Citrus limonum*) et d'orange (*Citrus aurantium*) dans l'alimentation des poulets de chair n'avait aucun effet sur la prise alimentaire, le gain de poids et l'indice de consommation durant toute la période de l'expérimentation.

Nos constatations corroborent en partie les résultats obtenus par **Abbasi et ses collaborateurs (2015)** qui ont rapporté que la supplémentation du régime de base avec 1,5% et 2% de la pulpe d'écorce d'orange douce (*Citrus sinensis*) n'a aucun effet sur les performances de croissance des poulets durant la période de démarrage (21jours) mais améliore significativement l'indice de consommation durant la phase de croissance.

Par contre, nos résultats sont différents de ceux obtenus par **Ebrahimi et ses collaborateurs (2013)** qui ont signalé que l'incorporation de la poudre d'écorce d'orange douce (*Citrus sinensis*) à un taux de 1,5 % dans le régime alimentaire des poulets améliore la consommation alimentaire et le gain de poids pendant la phase de démarrage (21jours), tandis que son utilisation à 3% réduit la consommation alimentaire durant les deux phases de l'expérimentation (démarrage et croissance).

Nous avons constaté que la supplémentation de l'aliment de base avec la poudre d'écorce de citron n'avait aucun effet sur les performances de croissance. Ce résultat corrobore les résultats de **Behboudi et al. (2016)** qui ont rapporté que l'administration du jus de citron dans l'eau de boisson des poulets n'entraîne aucune variation significative des performances de croissance. De même, **Omer et ses collaborateurs (2016)** ont constaté que l'incorporation de différentes doses d'un mélange de jus de citron, d'oignon et d'ail dans l'alimentation des poulets n'a pas entraîné des modifications significatives du gain de poids ou de la prise alimentaire durant toute la période de l'essai. Ces auteurs par contre ont constaté une amélioration de l'indice de consommation pendant la phase de démarrage lorsque le mélange est utilisé à 10 ml/kg d'aliment.

Nos résultats sont différents de ceux de **Nobakht (2003)** qui a observé une augmentation significative du gain de poids et de la prise alimentaire avec une diminution significative de l'indice de consommation chez les poulets recevant une alimentation supplémenteée avec la pulpe sèche de citron (*Citrus aurantifolia*).

Selon **Abdelmoneim et al. (2014)**, la substitution du maïs par 10% ou 20% d'un mélange d'écorces et de pulpe d'orange n'a aucun effet sur les performances de croissance des poulets mais un taux de remplacement de 60% entraîne une diminution importante du gain de poids et de l'indice de consommation.

Les résultats de la présente étude ont montré que le concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®) n'a aucun effet significatif sur le gain de poids ou la consommation alimentaire mais entraîne une amélioration non significative de l'indice de consommation. Ces résultats sont en partie similaires à ceux de **Sekhou et ses collaborateurs (2017)** qui ont rapporté dans leur essai réalisé à Sougueur (Tiaret, Algérie) que l'incorporation de Nor-Spice AB® à 250 ppm dans l'aliment de poulets Arbore-Acres n'a pas entraîné une différence significative dans le gain de poids ou la consommation alimentaire mais elle a optimisé l'indice de consommation d'une manière significative.

Contrairement à nos résultats, **Juin et ses collaborateurs (2003)** ont montré que l'incorporation de 300 ppm de Nor-Spice AB® dans l'alimentation des poulets améliore le gain de poids de 6.2% et le ratio de conversion alimentaire de 4.6%. Ce taux d'amélioration de l'indice de consommation est supérieur à celui que nous avons enregistré (2,53%).

Par ailleurs, nos résultats sont en partie en accord avec ceux d'obtenu par l'équipe de **Humbert (2004)** qui a montré dans une étude réalisée à Aviforum Zollikofen (Suisse) que l'incorporation de 300 ppm de Nor-Spice AB® dans l'aliment standard des poulets entraîne

une augmentation significative du gain de poids, une amélioration significative de la consommation alimentaire et une légère amélioration non significative de l'indice de consommation.

En outre, dans un essai réalisé en 2015 au centre de recherche animale à Bangkok (Thaïlande), la supplémentation d'un aliment pauvre en énergie et en protéines (-7% d'énergie et -5% de protéines) par 250 ppm de Nor-Spice AB® a entraîné une amélioration de l'indice de consommation de 1.2% en comparaison avec l'aliment standard riche en énergie et en protéines. Nos résultats sont différents de ceux de **Benarbia et al. (2016)** qui ont observé dans leur étude réalisée dans une ferme expérimentale à Lima (Pérou) que l'incorporation d'un mélange de 250 ppm de Nor-Spice AB® et de 500 ppm d'un coccidoistatique Norponin XO™ dans l'aliment standard du poulet de chair entraîne une amélioration de l'indice de consommation similaire aux promoteurs de croissance de synthèse utilisés comme témoin positif (Baczin®, Néomycine et Décoquinat).

D'autre part, les résultats concernant les effets des antibiotiques facteurs de croissance chez le poulet de chair ne sont pas cohérents. Ainsi, dans notre étude, l'utilisation de l'avilamycine comme promoteur de croissance n'a pas amélioré les performances de croissance des poulets par rapport au témoin négatif et aux autres additifs alimentaires. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Riazy et al., (2015)** qui ont rapporté que l'utilisation de l'avilamycine chez le poulet de chair n'a aucun effet significatif sur le gain de poids et l'indice de conversion alimentaire. Nos résultats sont aussi similaires à ceux de **Naderi et ses collaborateurs (2014)** qui ont montré que l'inclusion de l'avilamycine dans le régime alimentaire n'affecte pas la prise alimentaire et le gain de poids au cours des différentes périodes de l'essai.

Contrairement à nos résultats, **Yakhkeshi et ses collaborateurs (2012)** ont rapporté que l'utilisation de la virginamycine dans l'alimentation des poulets de chair entraîne une augmentation du gain de poids et améliore significativement l'indice de conversion au cours de la phase de démarrage et la période totale de l'élevage.

Selon de nombreux rapports de recherche, les effets des antibiotiques facteurs de croissance varient entre les différentes phases de l'élevage. En effet, **Sharifi et al. (2013)** ont rapporté un gain de poids plus élevé chez les poulets recevant un aliment de base supplémenté avec la flavomycine en comparaison avec les poulets recevant des extraits végétaux durant la phase de démarrage et la période totale de l'élevage, tandis qu'aucun effet n'a été noté pour la consommation alimentaire ou le ratio de conversion alimentaire.

Nos résultats ont montré une amélioration de l'indice de consommation de 4.06% par l'avilamycine. Ce taux est supérieur à celui obtenu par **Mallet et al., (2005)** qui ont observé une amélioration de l'indice de consommation de 1.9% chez les poulets recevant un aliment supplémenté avec 5 ppm d'avilamycine et cette différence pourrait être attribuée à la dose de l'antibiotique incorporée dans l'alimentation.

Peterson et ses collaborateurs (2003) ont rapporté que l'avilamycine améliore l'indice de consommation chez les poulets élevés au sol en comparaison avec les poulets élevés dans des batteries. Ces auteurs ont rapporté également que l'enramycine améliore le gain de poids mieux que l'avilamycine au cours de la phase de démarrage alors que l'avilamycine ou l'enramycine améliorent la consommation alimentaire mieux que la bacitracine.

Selon nos résultats et de nombreux travaux de recherche, l'efficacité de plusieurs plantes riches en composés bioactifs sur les performances des poulets de chair est incohérente et ceci pourrait être attribuée à plusieurs facteurs tels que la souche et l'état sanitaire des poussins, la qualité du régime de base, les conditions environnementales, les conditions d'élevage, la dose de l'additif alimentaire, la quantité et la qualité de composants actifs présents dans le phytobiotique et d'autres facteurs.

V. 2. 2. Effets des différents régimes expérimentaux sur le poids vif et le rendement de carcasse des poulets de chair.

Les régimes expérimentaux ont causé une forte variation du poids vif moyen entre les groupes. En effet, le meilleur poids et le meilleur rendement en carcasse ont été enregistrés chez le groupe recevant un régime supplémenté avec Nor-Spice AB®. Ce résultat est en concordance avec le résultat de **Benarbia et ses collaborateurs (2016)** qui ont noté une augmentation du poids vif final des poulets recevant un régime standard supplémenté avec un mélange de Nor-Spice AB® et d'un coccidiostatique Norponin XO™. Selon **Saleh (1992)**, il existe une relation étroite entre le poids corporel et le rendement de carcasse.

Dans la présente étude, l'incorporation de la poudre d'écorce d'orange dans l'alimentation des poulets n'avait aucun effet significatif sur le poids vif et le rendement de carcasse. Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Ebrahimi et al. (2013)** qui ont montré que l'inclusion de la poudre d'écorce d'orange douce dans l'alimentation des poulets de chair n'a aucun effet significatif sur le poids vif final et le rendement de carcasse.

Nos résultats ont montré que l'incorporation de la poudre d'écorce de citron dans l'alimentation n'a pas amélioré le poids vif ou le rendement de carcasse des poulets. Ces résultats sont en partie en accord avec ceux de **Nobakht (2013)** qui a observé que l'inclusion

de la pulpe sèche de citron a entraîné une augmentation du poids vif des poulets sans variation significative du rendement de carcasse.

Nos résultats sont similaires à ceux de **Behboudi et ses collaborateurs (2016)** qui n'ont obtenu aucun effet significatif sur le poids vif après l'utilisation de jus du citron dans l'eau de boisson des poulets de chair.

Bien qu'il soit prévu que l'utilisation de l'additif antibiotique permettrait d'améliorer la croissance des poulets de chair, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que l'avilamycine n'a aucun effet significatif sur le poids vif ou le rendement de carcasse en comparaison avec le témoin ou les autres régimes alimentaires. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Akbari (2014)** et **Riyazi et al. (2015)** qui ont montré que l'avilamycine n'a aucun effet sur le poids vif des poulets.

Contrairement à nos résultats, **Wellenreiter et ses collaborateurs (1999)** ont rapporté une augmentation du poids vif et du rendement de carcasse chez les poulets soumis à un régime contenant l'avilamycine. **Zhou et al. (2009)** ont également signalé que l'avilamycine augmente significativement le poids vif des poulets en comparaison avec le groupe témoin.

Les effets positifs du concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®) sur le poids vif et le rendement de carcasse pourraient être attribués d'une part à l'effet de ses molécules bioactives principalement les citroflavonoïdes et les oligosaccharides pectiques sur la modulation du microbiote intestinal en faveur des bactéries bénéfiques (**Jandhyala et al., 2015**) et d'autre part à l'effet positif de cet additif sur la morphologie intestinale. En effet, dans un essai réalisé à l'ITELV (Algérie), **Djezzar et ses collaborateurs (2017)** ont rapporté une augmentation de la longueur intestinale et la taille des villosités chez les poulets recevant un aliment standard supplémenté avec 250 ppm de Nor-spice AB®, ce qui améliore sans doute l'absorption des nutriments et conduit par conséquent à l'augmentation du poids vif et le rendement de carcasses.

V. 2. 3. Effets des différents régimes expérimentaux sur les poids des organes internes

Aucune différence significative dans les poids moyens du gésier, pancréas et foie n'a été notée entre les différents groupes expérimentaux et ceci corrobore les résultats obtenus par **Ebrahimi et al. (2014)**.

Nos résultats ont montré une diminution significative du poids absolu du cœur chez tous les groupes recevant un additif en comparaison avec le groupe témoin. Ce résultat n'est pas en concordance avec le résultat de **Chaudry et al., (2004)** qui ont noté une augmentation du poids du cœur proportionnelle à la dose de la poudre d'écorce de citrus incorporée dans

l'aliment. D'autres études ont montré que l'incorporation de Citrus dans l'alimentation des poulets n'a aucun effet sur le poids du cœur (**Akbarian et al., 2013 ; Ebrahimi et al., 2014**).

Par ailleurs, nous avons observé que l'incorporation de l'avilamycine dans l'alimentation a entraîné une diminution significative du poids du proventricule tandis que l'inclusion de la poudre d'écorce d'orange a provoqué une diminution importante du poids de la rate. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Akbarian et al. (2013)** et **Orayaga et al. (2016)** qui ont observé que l'utilisation de l'avilamycine ou de l'écorce d'orange dans l'alimentation du poulet de chair n'a aucun effet significatif sur le poids du proventricule et de la rate.

Nos résultats sont ainsi différents de ceux obtenus par **Agu et ses collaborateurs (2010)** qui ont observé une augmentation dose-dépendante des poids relatifs du gésier et du proventricule chez les poulets recevant un aliment supplémenté avec l'écorce d'orange douce.

Par ailleurs, l'incorporation de la poudre d'écorce d'orange dans l'alimentation des poulets de chair a augmenté de manière significative les poids du foie, du cœur et de la rate dans l'étude menée par **Siyal et al. (2016)** mais elle n'avait aucun effet significatif sur les mêmes organes dans l'étude effectuée par **Alefzadeh et al. (2016)**.

Selon **Ahaotu et al., (2017)**, l'utilisation de l'écorce d'orange comme additif alimentaire chez le poulet de chair a entraîné une augmentation significative du poids de certains organes (proventricule, gésier, cœur et la rate).

Ces résultats montrent que les effets des additifs antibiotiques et des phytobiotiques sur les poids absolus ou relatifs des organes sont controversés et les mécanismes entraînant l'augmentation ou la diminution du poids d'un organe ne sont pas élucidés.

V. 2. 4. Effets des différents additifs alimentaires sur les paramètres biochimiques

Les effets des additifs alimentaires sur la concentration plasmatique moyenne du cholestérol total à la fin de la période expérimentale ont montré une augmentation significative du taux du cholestérol total chez les poulets recevant l'additif antibiotique par rapport au groupe témoin. Ce résultat est similaire à celui obtenu par **Sharifi et al. (2013)** qui ont observé que l'incorporation d'un antibiotique facteur de croissance, flavomycine, dans l'alimentation des poulets induit une augmentation de la concentration moyenne du cholestérol total.

Cette hypercholestérolémie pourrait être attribuée selon **Guban et al. (2006)** à une diminution de la croissance et de l'activité de la microflore intestinale responsable de la déconjugaison des sels biliaires, ce qui réduit l'émulsification hépatique des lipides et leur absorption et conduit par conséquent à l'augmentation du taux du cholestérol total.

D'autre part, nous avons observé une baisse des taux sériques du cholestérol chez les groupes soumis aux régimes contenant les poudres des écorces d'orange et de citron en comparaison avec le groupe recevant l'avilamycine. Ce résultat est consistant avec les résultats obtenus par d'autres auteurs (**Abbasi et al., 2015 ; Ebrahimi et al., 2016**).

En outre, **Chaudry et ses collaborateurs (2004)** ont rapporté que le taux plasmatique du cholestérol diminue significativement avec l'incorporation de doses élevées d'écorces d'agrumes dans la ration alimentaire et ils ont attribué cette hypocholestérolémie aux pectines présentes selon **Baker (1994)** à la fois dans les parties comestibles des fruits ainsi que les résidus non comestibles comme les écorces.

Selon **Gallaher et al., (1993)**, les pectines réduisent l'absorption des sels biliaires et augmentent l'excrétion fécale des acides biliaires ce qui conduit à la diminution du taux sanguin du cholestérol. D'autre part, il a été suggéré que la fermentation anaérobie de la pectine au niveau du colon aboutit à la synthèse des acides gras à chaînes courtes dont l'absorption pourrait altérer la biosynthèse du cholestérol (**Anderson et Bridge, 1998**).

De plus, l'effet hypocholestérolémiant des agrumes a été attribué selon **Bok et al. (1999)** aux flavonoïdes présents dans l'écorce qui inhibent l'activité de l'enzyme hépatique 3-hydroxy-3-méthyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA) réductase ; responsable de la biosynthèse du cholestérol dans le foie.

Une augmentation significative de la concentration plasmatique moyenne des triglycérides a été observée chez les groupes recevant Nor-Spice AB® et la poudre d'écorce de citron en comparaison avec le groupe témoin. Cette augmentation pourrait être attribuée à l'augmentation de la lipogenèse hépatique (**Lanza- Jacoby, 1986 ; Herzberg et Rogerson, 1988**). Ces résultats sont différents à ceux de **Behboudi et ses collaborateurs (2016)** qui ont observé une diminution du taux des triglycérides chez les poulets recevant le jus de citron dans l'eau de boisson. **Ebrahimi et al. (2016)** par contre n'ont rapporté aucun effet sur le taux des triglycérides chez les poulets nourris avec un aliment supplémenté avec la poudre d'écorce de citrus.

Contrairement aux résultats de **Riyazi et al. (2015)** qui ont révélé une augmentation marquée de la concentration des triglycérides chez les poulets recevant un additif antibiotique, nos résultats n'ont montré aucun effet significatif de l'avilamycine sur la concentration plasmatique moyenne des triglycérides.

Ainsi dans notre étude, la concentration plasmatique moyenne du glucose a diminué de façon hautement significative chez tous les groupes recevant un aliment supplémenté en comparaison avec le groupe témoin.

Ces résultats sont similaires à ceux d'**Ebrahimi et al., (2016)** qui ont rapporté une diminution significative de la concentration plasmatique moyenne du glucose chez les poulets recevant un régime contenant la poudre d'écorce d'orange douce. De même, **Elhardallou et ses collaborateurs (2015)** ont rapporté dans leur étude une hypoglycémie significative chez les rats diabétiques nourris avec différentes doses de la poudre d'écorce d'orange.

Nos résultats sont différents de ceux obtenus par **Abbasi et son équipe (2015)** qui ont remarqué que l'utilisation de la pulpe sèche de citron chez le poulet de chair n'a aucun effet significatif sur le taux de glucose. Dans leur étude, **Nazok et ses collaborateurs (2010)** par contre ont rapporté que l'inclusion de 16 % de pulpe sèche de citron dans l'alimentation des poules pondeuses entraîne une augmentation significative de la glycémie et une diminution de la concentration de triglycérides.

Selon **Hazelwood et Langslow (1978)**, l'hypoglycémie observée pourrait être attribuée soit à une augmentation de la sécrétion de l'insuline par les cellules bêta, soit à une diminution de la sécrétion du glucagon par les cellules alpha du pancréas. Ainsi dans leur étude, **Parmar et Kar (2007)** ont rapporté que l'utilisation d'un extrait aqueux d'orange douce chez des rats diabétiques entraîne une diminution significative du taux de glucose avec une augmentation concomitante du taux de l'insuline.

V. 2. 5. Effets de la supplémentation alimentaire sur la morphométrie intestinale

L'incorporation de l'avilamycine dans le régime alimentaire des poulets a entraîné une diminution importante de la longueur intestinale en comparaison avec le groupe témoin. Ce résultat est en accord avec celui de **Miles et al. (2006)** qui ont rapporté un raccourcissement de la longueur intestinale chez les poulets soumis à un régime contenant soit la virginamycine, soit la bacitracine disalicylate de méthylène. D'autres études ont signalé également que les antibiotiques promoteurs de croissance induisent un raccourcissement des intestins et un amincissement de leur paroi (**Modi et al., 2011 ; David et al., 2016**). Cet effet pourrait être attribué à l'action des facteurs de croissance antibiotiques sur la microflore. En effet, il est bien connu que les antibiotiques promoteurs de croissance entraînent la modification du microbiote intestinal et ses métabolites ce qui conduit à des modifications morphologiques précoces puisque la microflore joue un rôle important dans la morphogénèse et le développement intestinal au cours des premiers jours après l'éclosion. Ces deux éléments pris ensemble pourraient expliquer l'effet de l'avilamycine sur la longueur intestinale.

V. 2. 6. Effets des différentes rations alimentaires sur la flore digestive des poulets

Une diminution significative de la population de *Lactobacillus* sp. dans le contenu cæcal a été observé à J21 chez le groupe recevant le concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®). Cependant, aucune variation significative du nombre des lactobacilles n'a été observée entre les différents groupes expérimentaux à J42.

L'incorporation Nor-Spice AB® dans la ration alimentaire des poulets a entraîné une réduction significative du nombre d'*Escherichia coli* dans le cæcum à la fin de la phase de démarrage (J21) et à la fin de la phase de croissance (J42) en comparaison avec le groupe témoin. En outre, Nor-Spice AB® a entraîné une réduction hautement significative des entérocoques à la fin de la phase de démarrage.

Nous avons constaté une diminution importante de la population d'*Escherichia coli* et d'*Enterococcus* sp. à J21 avec une augmentation des entérocoques à J42 chez le groupe recevant la poudre d'écorce d'orange. En revanche, la population cæcale de *Lactobacillus* sp. n'a accusé aucune variation chez le même groupe au cours des deux phases de l'essai.

Ces résultats sont en partie en accord avec les résultats d'**Ebrahimi et al. (2015)** qui ont observé que la supplémentation du régime de base avec la poudre d'écorce d'orange douce n'avait aucun effet sur la population de *Lactobacillus* sp. mais réduisait significativement la population cæcale d'*E. coli* à J 42.

Nos résultats sont différents de ceux de **Pourhossein et al. (2012)** qui ont rapporté une augmentation significative des lactobacilles et une diminution significative des colibacilles (*E. coli*) à J42 dans le contenu cæcal de poulets recevant un régime contenant l'écorce d'orange douce. La présente étude a permis d'avoir ainsi des résultats différents de ceux indiqués par **Alefszadeh et ses collaborateurs (2016)**, en effet ces auteurs ont noté une augmentation significative de la population cæcale de *Lactobacillus* sp. et une diminution de la population d'*E. coli* à J42 chez les poulets soumis à un régime supplémenté avec 2% de la poudre d'écorce d'orange.

Par ailleurs, l'inclusion des écorces d'orange et de citron dans l'alimentation des poulets induit une diminution significative du nombre des coliformes totaux dans le cæcum à J38 par rapport au témoin mais n'entraîne aucune différence significative dans le nombre des lactobacilles (**Akbarian et al., 2013a**).

Dans un autre rapport de recherche, l'utilisation des huiles essentielles de citron et d'orange dans l'alimentation de poulets conduit à une augmentation significative de la

population des bactéries lactiques et une diminution significative du nombre d' *Escherichia coli* dans le jéjunum (Erhan et Bölükbaşı, 2017).

Les résultats de notre étude ont révélé une diminution hautement significative de la population cœcale des entérocoques à la fin de chaque phase (J21 et J42) suite à l'incorporation de la poudre d'écorce de citron dans la ration de base. Toutefois, il est difficile de discuter ces résultats car les données concernant l'effet des additifs à base d'agrumes sur la population des entérocoques ne sont pas disponibles et la plupart des données concernent les populations de *Lactobacillus* sp. et *Escherichia coli*.

Nous n'avons observé aucun effet de l'avilamycine sur le nombre d'*Escherichia coli* à J21, par contre cet antibiotique a induit une diminution significative de la même population bactérienne à J42. Parallèlement, aucune variation significative du nombre des lactobacilles n'a été observée en présence de l'avilamycine à la fin des deux phases. Ces résultats sont en accord avec ceux de Lee et al. (2015) qui indiquent que l'avilamycine n'a aucun effet significatif sur les bactéries lactiques mais induit une diminution marginale des coliformes à J35. Ainsi l'utilisation de l'avilamycine a causé une réduction importante du nombre des entérocoques à la fin de la phase de croissance. Ce résultat est similaire à celui de Butaye et al. (2005) qui ont observé une réduction importante de la population bactérienne d'*Enterococcus faecium* à J42 chez les poulets recevant un aliment supplémenté avec 13.6 ppm d'avimaycine. Notre résultat corrobore ainsi ceux de Katsunuma et ses collaborateurs (2006) qui ont enregistré une diminution importante de la population d'*Enterococcus faecalis* suite à l'utilisation de deux doses d'avilamycine (5 ppm et 50 ppm) pendant 30 jours.

L'effet de l'avilamycine sur les entérocoques pourrait être attribué à l'activité antibactérienne connue de l'avilamycine contre les bactéries à Gram positif; principalement les entérocoques, les staphylocoques et les streptocoques. En effet, l'avilamycine est un antibiotique bactériostatique de la famille des Orthosomycines qui bloque la multiplication bactérienne par inhibition de la synthèse de l'ARN messenger (Mensah et al., 2014).

Dans notre étude, la numération des populations bactériennes dans le contenu cœcal des poulets de chair à la fin de chaque phase de l'essai a accusé des variations importantes entre les différents groupes expérimentaux utilisés au cours de la même période (démarrage ou croissance), ce qui confirme que la composition du contenu digestif est fortement influencée par l'alimentation non seulement en termes de matières premières mais aussi d'additifs alimentaires car ces composants vont interagir avec les bactéries du tube digestif en favorisant (facteurs de croissance) ou en inhibant (facteur antibactériens) leur croissance modifiant par conséquent la composition du microbiote intestinal. D'autres facteurs liés à l'animal peuvent

être incriminés dans la grande variabilité des résultats obtenus tels que l'âge des animaux et aussi les variations interindividuelles notées.

Par ailleurs, Nous avons étudié l'effet des différents additifs sur la microflore digestive par méthode de comptage des colonies sur milieux de culture sélectifs et cette méthode classique reste limitée et donne des résultats difficiles à interpréter car elle permet d'étudier uniquement la fraction des bactéries cultivables d'où l'intérêt des techniques de biologie moléculaire qui permettent de pallier à ces difficultés. En revanche, ces dernières peuvent avoir aussi des limitations liées à l'extraction de l'ADN ou à son amplification. Par conséquent, la combinaison des deux méthodes s'avère importante et utile pour une bonne connaissance du microbiote, particulièrement au niveau du contenu digestif.

V. 2. 7. Effets des différents additifs sur la croissance de *Lactobacillus brevis in vitro*

Le suivi de croissance de *L. brevis* sur les milieux MRS contenant en plus du glucose, 0.2% de la poudre d'écorce de citron, 0.2% de la poudre d'écorce d'orange ou 0.2% de la poudre Nor-Spice AB® en comparaison avec le milieu MRS contenant le glucose sans aucun autre supplément a révélé après 24 heures d'incubation sous agitation à 37°C un schéma classique de culture discontinue avec un potentiel de croissance intéressant sur tous les milieux. Une augmentation lente de la vitesse de croissance a été observée du temps 0 à 4 heures, ce qui pourrait être attribué au caractère de la souche de *Lactobacillus brevis* qui est une bactérie à croissance ralentie (Hoque et al., 2010).

Une augmentation rapide de la vitesse croissance sur tous les milieux a été observée à partir de la 4^{ème} heure et atteint son maximum après 18^{ème} heure de fermentation. Ce résultat est partiellement cohérent avec le résultat de Kassas (2017) qui a montré que la phase de croissance exponentielle pour *L. brevis* débute après 4 heures sur le milieu MRS et atteint son maximum après 24h.

Après 18h de fermentation, la vitesse de croissance est presque constante dans tous les milieux jusqu'à 24 heures, ce qui correspond à la phase stationnaire.

La croissance de *Lactobacillus brevis* sur le milieu MRS contenant le glucose a été rapporté par plusieurs auteurs. En effet, Hadj Said et Benchouni (2013) ont signalé une croissance significative de *L. brevis* sur le milieu MRS contenant le glucose. Ainsi, la présence du glucose dans le milieu MRS entraîne une bonne croissance de *L. brevis* avec production d'une biomasse importante (Ahmed Gaid et al, 2015).

Bien que la croissance de *L. brevis* sur le milieu MRS témoin soit significative, le glucose qui se trouve dans le milieu sert uniquement d'une source de carbone et ne peut être considéré comme prébiotique du fait de son absorption précoce dans l'intestin, ce qui l'empêche à

stimuler la croissance de la flore endogène au niveau du colon principalement (**Genestie, 2006**). En fait une substance prébiotique doit être non digestible pour servir de substrat à un nombre limité de bactéries principalement les bifidobactéries et les lactobacilles en augmentant leur croissance et leur activité dans le colon (**Gibson et Roberfroid, 1995**).

L'analyse des résultats de croissance a montré que Nor-Spice AB® a accusé la meilleure croissance de *L. brevis* durant la phase exponentielle. Ce résultat est cohérent avec le résultat obtenu par l'équipe de Nor-feed Sud (2012) qui a observé que la croissance de *Lactobacillus acidophilus in vitro* en présence de la poudre Nor-Spice AB® était supérieure à sa croissance en présence de l'inuline qui est un prébiotique de référence.

L'effet prébiotique de Nor-Spice AB® sur la croissance de *L. brevis* est attribué aux oligosaccharides pectiques (POS) qui se trouvent dans ce concentré d'agrumes (NSAB). En effet, il est bien connu que les fibres alimentaires comme les polysaccharides tels que l'amidon, les pectines, l'inuline et les oligosaccharides sont indigestibles et stimulent la croissance des bifidobactéries et des lactobacilles (**Combo et al., 2011**).

Les bactéries lactiques fermentent les oligosaccharides pectiques et entraînent la production des acides gras à courte chaîne comme les acides lactique, acétique et butyrique. Ces derniers qui sont ensuite utilisés par les différents tissus de l'organisme comme substrats énergétiques et stimulent la croissance de l'hôte (**Amrouche, 2005**).

Parallèlement, nous avons observé une augmentation de la biomasse de *L. brevis* en présence des poudres des écorces de citron et de l'orange. Cet effet prébiotique pourrait être attribué aux oligosaccharides pectiques (POS) qui se trouvent dans les écorces des agrumes. Ce résultat est en concordance avec celui de **Mandalari et al. (2007)** qui ont montré un potentiel prébiotique important des oligosaccharides pectiques extraits enzymatiquement à partir des écorces de différents cultivars de bergamote sur différentes populations de *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. paracasei*, *L. fragilis* et *L. rhamnosus*) cultivées sur le milieu MRS. Ainsi, **Manderson et al. (2005)** ont rapporté une augmentation du nombre des bifidobactéries sur un milieu contenant des oligosaccharides pectiques obtenus par extraction enzymatique à partir des écorces d'orange.

Malgré la présence des oligosaccharides pectiques dans les trois substrats utilisés, nous avons remarqué une activité prébiotique de Nor-Spice AB® nettement supérieure à celle des écorces de citron et d'orange, ce qui laisse suggérer une teneur plus importante en POS dans ce mélange formé d'un concentré d'agrumes et d'écorces de citron, ou une action combinée des POS avec d'autres molécules présentes dans ce mélange. D'autre part, il est

indispensable de connaître la structure de ces POS qui pourrait jouer un rôle important dans les propriétés de fermentation des fragments pectiques car les POS faiblement méthylés sont les meilleurs substrats pour la croissance des bactéries (**Combo et al., 2011**).

Bien que les phytobiotiques utilisés dans la présente étude ont amélioré la croissance de *Lactobacillus in vitro*, aucune augmentation significative de la population cœcale des lactobacilles n'a été observée *in vivo*, ce qui pourrait être attribué aux limitations de la technique de dénombrement classique pour quantifier une population bactérienne dans un environnement comme le tractus gastro-intestinal tel que rapporté par **Vidanarachi et al., (2010)**.

V. 2. 8. Rendement d'extraction

Le calcul des rendements d'extraction par rapport au poids total du broyat montre que l'extrait brut de l'écorce d'orange douce est supérieur ($33.25 \pm 3.18\%$) à celui de l'écorce de citron ($25.25 \pm 1.06\%$) et de la poudre Nor-Spice AB® ($19.70 \pm 4.46\%$).

Le résultat du rendement de l'écorce d'orange que nous avons obtenu est supérieur à ceux rapporté par **Hegazy et Ibrhium (2012)** qui ont enregistré des rendements de 27.96% et 28,32% pour les extraits éthanolique et méthanolique de l'écorce d'orange, respectivement.

Chanthaphon et al. (2008) ont rapporté des rendements de 2.44% pour l'écorce d'orange et de 1.73% pour l'écorce de citron après extraction par macération pendant huit heures dans l'éthyl d'acétate. **Sekar et al. (2013)** ont enregistré des rendements d'extraction de 18.38% et 17.26 pour les extraits méthanoliques des écorces d'orange et de citron, respectivement.

Toutefois, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature car le rendement n'est pas relatif et varie considérablement en fonction de la méthode d'extraction utilisée, la nature du solvant ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. (**Lee et al., 2003 ; Ghasemzadeh et al., 2011**).

V. 2. 9. Quantification des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux (CPT) dans l'extrait éthanolique de l'écorce de citron (*C. limonum*) est plus élevée (133.63 ± 10.08 mg EAG/g MS) par rapport à celle de l'orange (*C. sinensis* L var. Thomson Navel ; 100.97 ± 4.68 mg EAG/g MS) et de Nor-Spice AB® (56.55 ± 0.87 mg EAG/g MS).

Dans une étude réalisée par **Ghasemi et al. (2009)** sur trois variétés d'orange douce (*C. sinensis* var. Washington, Sungin et Valencia), les teneurs en CPT dans l'extrait méthanolique des écorces étaient de 160.3, 153.8 et 132.9 mg EAG/g MS, respectivement. Ces

valeurs sont supérieures à celles que nous avons enregistrées. En outre, ces auteurs ont rapporté une teneur en CPT dans l'extrait méthanolique de l'écorce de citron (*C. limonum L*) proches à celle que nous avons obtenue (131 mg EAG/g Ms vs 133.63± 10.08 mg EAG/g MS).

Cependant **Hegazy et Ibrahim (2012)** rapportent une teneur en CPT de 169.56 mg EAG/g MS dans l'extrait éthanolique de l'écorce d'orange. Cette valeur est nettement supérieure à celle que nous avons obtenue.

La teneur en CPT que nous avons enregistrée dans l'extrait phénolique de l'écorce d'orange (*C. sinensis* var. Thomson) est hautement supérieure à celle obtenue par **Lagha-Benamrouche et Madani (2013)** qui ont rapporté une teneur en CPT de 25.6 mg EAG/g MS dans l'extrait méthanolique de la même variété (Thomson).

Cette divergence dans les teneurs en CPT entre les différentes études peut s'expliquer par le fait que les méthodes d'extraction et de quantification peuvent influencer de manière significative la teneur en composés phénoliques (**Hayouni et al., 2007**).

Nos résultats montrent aussi une teneur en polyphénols totaux dans l'extrait de Nor-Spice AB® plus faible que les teneurs enregistrées dans les extraits des écorces de citron et de l'orange et ceci pourrait être expliqué par la perte de certains composés au cours du processus de fabrication de la poudre Nor-Spice AB® qui est issue d'un concentré d'agrumes pulvérisé sur un support en silice. La teneur en polyphénols totaux dans la poudre Nor-Spice AB® mentionnée dans la fiche technique du produit est de 7% équivalent catéchine.

V. 2. 10. Quantification des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes montre des teneurs rapprochées dans les extraits des écorces d'orange et du citron (22.65±0.78 et 21,49±0.32 mg EQ/gMS, respectivement). L'extrait de Nor-Spice AB® contient par contre une teneur plus faible en flavonoïdes (10.68± 0.22mg EQ/g MS).

Dans leur étude, **Ghasemi et ses collaborateurs (2009)** ont trouvé une teneur en flavonoïdes de 23.2 mg EQ/g MS dans l'extrait méthanolique d'écorce de *Citrus sinensis* var. Washington. Cette teneur est proche de celle que nous avons enregistrée pour l'extrait de l'écorce d'orange (22.65±0.78 mg EQ/g MS). Ces auteurs ont indiqué par contre, des teneurs plus inférieures dans les deux autres variétés de la même espèce (7.2 et 2.1 mg EQ/g MS pour Valencia et Sungin, respectivement). Les mêmes auteurs ont rapporté une teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de citron inférieure à celle que nous avons obtenue (16.2 mg EQ/gMS).

Lagha-Benamrouche et Madani (2013) ont rapporté une teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique d'orange douce (*C. sinensis* L. var Thomson Navel) très inférieure à celle que nous avons obtenue (1.28 mg EQ/g MS).

D'après les données fournies par la société de fabrication de Nor-Spice AB®, ce produit est riche en citroflavonoïdes. Il contient 0.5% de narangine et 2% d'hespéridine. On pourrait attribuer la faible teneur en flavonoïdes totaux que nous avons obtenue dans l'extrait phénolique de Nor-Spice AB® au processus de fabrication du produit qui pourrait altérer ou causer la perte de certains composants.

Les résultats de notre étude et ceux de nombreux autres travaux de recherche indiquent que les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes varient quantitativement d'une plante à une autre, ce qui rend la comparaison difficile entre les différentes études. Cette variabilité dépend de plusieurs facteurs dont les plus importants sont les conditions expérimentales, les facteurs environnementaux et climatiques, la période de récolte et le degré de maturation de la plante ainsi que la partie de la plante utilisée (**Miliauskas et al., 2004**).

V. 2. 11. Activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent un effet inhibiteur dose dépendant marqué de l'extrait de l'écorce de citron contre les bactéries à Gram positive. En effet, les deux souches du genre *Enterococcus* ont montré une sensibilité aux différentes concentrations utilisées dont les diamètres des zones d'inhibition sont proportionnels aux concentrations correspondantes.

Cette sensibilité à l'extrait de l'écorce de citron est beaucoup plus élevée pour *Enterococcus* sp. en comparaison avec la souche de référence *Enterococcus faecalis*. Ce résultat est similaire à celui de **Tumane et al. (2014)** qui a observé un effet antibactérien marqué d'un extrait d'écorce citron (*Citrus medica* L.) sur des isolats cliniques d'*Enterococcus spp.*

En comparaison avec les bactéries à Gram positif, les résultats obtenus montrent que les bactéries à gram négatif sont moins sensibles voire résistantes à l'extrait de l'écorce de citron. En effet, les deux souches d'*Escherichia coli* sont résistantes avec absence totale des zones d'inhibition à toutes les concentrations testées excepté une légère zone d'inhibition observée à la plus forte concentration contre la souche d' *E. coli* isolée du contenu cæcal des poulets durant l'essai expérimental. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Pandey et al. (2011)** et **Unnisa et al. (2012)** qui ont noté un effet inhibiteur très marqué de l'extrait phénolique de l'écorce de citron sur des isolats d'*Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 20 mm.

Nos résultats montrent un effet inhibiteur modéré de l'extrait phénolique de l'écorce d'orange vis-à-vis d'*Enterococcus* sp. avec des diamètres d'inhibition allant de $7 \pm 0,55$ à $13 \pm 1,87$ mm. *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 par contre est légèrement plus sensible à l'extrait de l'écorce d'orange avec une zone d'inhibition de $14 \pm 2,82$ mm à la plus forte concentration de l'extrait. **Obidi et ses collaborateurs (2013)** ont étudié l'effet de l'huile essentielle de l'écorce d'orange douce contre une souche clinique d'*Enterococcus faecalis* et ils ont rapporté un effet inhibiteur très puissant avec une zone d'inhibition de 30 mm.

Les souches d'*Escherichia coli* ont montré une faible sensibilité voire même une résistante à l'extrait de l'écorce d'orange. En effet, la souche d'*E. coli* isolée à partir du contenu caecal est sensible uniquement à la concentration de 500 mg/ml avec un diamètre de $11,50 \pm 0,70$ mm. *Escherichia coli* ATCC 25296 par contre est résistante à toutes les concentrations utilisées. Ce résultat est en partie en accord avec celui indiqué par **Uchechi et Oghenorobo (2010)**. Ces auteurs ont noté un effet inhibiteur très faible de l'extrait d'écorce de *C. sinensis* contre un isolat clinique d'*Escherichia coli*. Ainsi, l'étude de l'activité antibactérienne d'une huile essentielle d'écorce d'orange douce a permis d'obtenir une action inhibitrice très importante marquée par une zone d'inhibition de 30mm contre un isolat clinique d'*Escherichia coli*. Cependant, cet effet inhibiteur était très faible contre *E. coli* ATCC 29522 et marqué par une zone d'inhibition de 7mm (**Obidi et al, 2013**).

La résistance des souches *Escherichia coli* aux extraits phénoliques des écorces de citron et de l'orange pourrait être due à un mécanisme de détoxification des principes actifs par la bactérie (**Nwankwo et al., 2014**).

En dehors de son effet antibactérien sur les bactéries à Gram positif, l'extrait phénolique du concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®) a montré un effet antibactérien dose-dépendant plus puissant que les deux autres extraits vis-à-vis des bactéries à gram négatif. Ainsi *E. coli* est sensible à toutes les concentrations de l'extrait à l'exception de la plus faible concentration avec des zones d'inhibition allant de $8,67 \pm 0,58$ mm à $12,67 \pm 2,52$ mm. La souche de référence (*E. coli* ATCC 25922) par contre est sensible aux plus fortes concentrations de l'extrait avec des diamètres allant de $12,26 \pm 0,65$ mm à $17,20 \pm 1,09$ mm.

Nor-Spice AB® est un mélange d'un concentré d'agrumes et d'écorces de citron, composé majoritairement de citroflavonoïdes, d'oligosaccharides pectiques, d'acides organiques et d'huiles essentielles (limonène principalement) dont la combinaison de toutes ces molécules pourrait expliquer la bonne activité antibactérienne *in vivo* et *in vitro* notamment vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* en comparaison avec les extraits obtenus à partir des écorces d'orange et de citron dont la nature des composants reste à explorer.

Nos résultats montrent une grande variabilité antibactérienne des trois extraits vis-à-vis des souches testées. Cette dissimilitude observée pourrait être attribuée à la composition phytochimique de l'extrait d'une part et à la structure de la paroi bactérienne d'autre part.

De nombreux composés phénoliques possèdent des propriétés antibactériennes et les différentes classes de polyphénols agissent par des mécanismes différents. En effet, **Cowan (1999)** a souligné que les polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes en fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. Cette toxicité peut être liée à l'inhibition des enzymes hydrolytiques telles que les protéases et les carbohydrases ou d'autres interactions inactivant les adhésines microbiennes, les protéines de transport et de la paroi cellulaire.

L'hydrophobicité des polyphénols tels que les flavonoles est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires, ce qui entraîne la déstabilisation de la membrane cytoplasmique et la rend perméable (**Cowan, 1999**).

L'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action directe sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels comme le fer et le zinc sont des mécanismes adaptés dans l'inhibition des bactéries (**Daglia, 2011**).

L'étude de l'activité antibactérienne *in vitro* des trois extraits phénoliques de la poudre Nor-Spice AB®, la poudre d'écorce de citron et la poudre d'écorce d'orange vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* et d'*Enterococcus* sp. isolées à partir du contenu cæcal des poulets utilisés dans l'essai expérimental nous a permis d'attribuer la diminution de ces populations bactériennes observée lors du dénombrement bactérien sur milieux sélectifs à l'effet antibactérien de certains composés présents dans les différents phytobiotiques (NSAB, PEO et PEC). Cependant, l'étude de l'effet de ces additifs sur la flore cæcale des poulets de chair a donné parfois des résultats très variables d'un additif à l'autre et d'une phase à l'autre. Cette variabilité pourrait être attribuée au mode de préparation du phytobiotique (broyat d'écorces de citron et d'orange et un concentré d'agrumes pour Nor-Spice AB®) ainsi que la nature et la concentration des principes actifs présents dans chaque additif.

Par ailleurs, il est important de rappeler que l'efficacité d'un phytobiotique *in vitro* et l'absence de ses effets *in vivo* est lié probablement à l'interaction de certains composés du phytobiotique avec certains composants alimentaires. En effet, il a été démontré que certains composés phénoliques se lient aux fractions hydrophobes de l'aliment et empêchent ainsi leur

action antibactérienne *in vivo* alors que leur effet antibactérien est prouvé *in vitro* (**Guardia, 2011**). Certains auteurs suggèrent que la plus grande disponibilité des nutriments dans le milieu digestif par rapport aux milieux de culture *in vitro* pourrait permettre aux bactéries de récupérer rapidement les effets néfastes causés par certains additifs alimentaires (**Gill et al., 2002**).

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES



Conclusion et perspectives

Depuis l'interdiction des antibiotiques facteurs de croissance en alimentation animale, l'utilisation des produits à base plantes a connu un développement spectaculaire en particulier dans le domaine de l'aviculture. Ainsi, les effets des extraits végétaux sur les performances de croissance des animaux ont fait l'objet de plusieurs études mais parmi les nombreux travaux de recherche publiés, les effets observés, aussi bien à l'échelle zootechnique, biochimique ou microbiologique sont très variables.

L'étude des performances zootechniques des poulets de chair ayant reçu un aliment standard non supplémenté ou un aliment supplémenté avec un additif (avilamycine, Nor-Spice AB®, la poudre d'écorce de citron ou la poudre d'écorce d'orange) a permis d'obtenir des différences non significatives entre les différents groupes surtout en termes de gain de poids et de consommation alimentaire mais nous avons enregistré une légère amélioration des indices de consommation par tous les additifs utilisés.

Concernant les effets des différents additifs sur le poids vif et de rendement de carcasse, le concentré d'agrumes a accusé les meilleurs résultats. L'inclusion des poudres des écorces de citron et de l'orange douce dans les rations de base a permis d'obtenir des effets similaires à ceux de l'antibiotique promoteur de croissance.

Au niveau sanguin, nous avons noté des variations importantes des paramètres biochimiques. Ces variations sont caractérisées principalement par une hypoglycémie chez tous les groupes supplémentés et une hypercholestérolémie chez le groupe recevant l'antibiotique facteur de croissance.

L'évaluation des effets de l'antibiotique et des phytobiotiques sur la microflore digestive des poulets à la fin des deux phases de l'essai a permis d'obtenir des résultats très variables caractérisés principalement par une activité antibactérienne vis-à-vis des entérocoques et des colibacilles. Parallèlement, l'évaluation de l'activité prébiotique des trois phytobiotiques (NSAB, PEC et PEO) *in vitro* et *in vivo* a permis d'obtenir un effet stimulateur de croissance des lactobacilles *in vitro* uniquement.

Sur la base des résultats obtenus et pour valoriser les sous-produits d'agrumes et généraliser leur utilisation dans le domaine de l'alimentation des volailles, plusieurs perspectives peuvent être envisagées:

- Identifier la composition des écorces de citron et de l'orange par la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS).
- Etudier le microbiote digestif dans différents segments du tube digestif en appliquant des techniques de biologie moléculaires.
- Effectuer des prélèvements sanguins réguliers et mesurer plusieurs paramètres biochimiques afin de comprendre les mécanismes de variation.
- Etudier les caractéristiques organoleptiques de la viande de poulets recevant des additifs à base d'agrumes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Aarestrup, F. M., Agerso, Y., Gerner–Smidt, P., Madsen, M., Jensen, L. B. 2000. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 37(2), 127-137.
2. Abbasi, H., Seidavi, A., Liu, W; Asadpour, L. 2015. Investigation on the effect of different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) pulp on performance, carcass characteristics and physiological and biochemical parameters in broiler chicken. *Saudi journal of biological sciences*, 22: 139-146.
3. Abdel-Moneim M. A., Hamady G. A. A., Motawe H. F. A. 2014. The use of orange Waste with and without Enzymes in broilers' diets and its effect on their performance, carcass traits and some Blood parameters. *Res. J. Animal, Veterinary and Fishery Sci*, 2(12) : 14-19.
4. AFSSA, 2006. Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquence pour la santé humaine. AFSSA; 232 p.
5. Agu, P., Oluremi, O; Tuleun, C. 2010. Nutritional evaluation of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit peel as feed resource in broiler production. *Int. J. Poult. Sci*, 9: 684-688.
6. Ahaotu, E., Ekenyem, B; Aggrey, E. 2017. Sustainability of sweet orange (*Citrus sinensis*) peel meal on the performance of finisher Broilers.
7. Ahmed-Gaid, K., Boukhemis, M., Djeghri-Hocine, B. 2016. A low cost medium containing chicken intestine autolysate for *Lactobacillus brevis* growth: Statistical optimization. *Advance Journal of Food Science and Technology* 10(9): 642-647.
8. Akbari, M. 2014. Effects of Dietary Inclusion of Turmeric (*Curcuma longa*) and Cinnamon (*Cinnamomum verum*) Powders on Performance, Organs Relative Weight and Some Immune System Parameters in Broiler Chickens. *Poultry Science Journal*, 2: 153-163.
9. Akbarian, A., Golian, A., Kermanshahi, H., Farhoosh, R., Raji, A. R., De smet, S; Michiels, J. 2013a. Growth performance and gut health parameters of finishing broilers supplemented with plant extracts and exposed to daily increased temperature. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11: 109-119.
10. Akbarian, A., Golian, A., Gilani, A., Kermanshahi, H., Zhaleh, S., Akhavan, A., DE Smet, S; Michiels, J. 2013b. Effect of feeding citrus peel extracts on growth performance, serum components, and intestinal morphology of broilers exposed to high ambient temperature during the finisher phase. *Livestock Science*, 157: 490-497

11. **Albazaz, R. I., Bal, E. B. B. 2014.** Microflora of digestive tract in poultry. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 17(1), 39-42.
12. **Alefzadeh, T., Bouyeh, M., Den hoven, R.V., Seidavi, A., Laudadio, Tufarelli, V. 2016.** Effect of Dietary Dried Orange (*Citrus sinensis*) Peel Powder and Exogenous Multi-Enzymes on Growth and Carcass Traits and Ileal Microflora of Broiler Chickens. *Pakistan Journal of Zoology*, 48.
13. **Alleman, F., Gabriel, I., Dufourcq, V., Perrin, F., Gabarrou, J. F. 2013.** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. Performances de croissance et règlementation. *INRA Prod. Anim.*, 26 (1), 3-12.
14. **Alloui, M. N. 2011.** Les phytobiotiques comme alternative aux antibiotiques promoteurs de croissance dans l'aliment des volailles. *Livestock Research for Rural Development*, 23 (6).
15. **Almagrot, J. 1982.** L'appareil digestif et ses annexes, In: Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires. Edition : Le point vétérinaire. Paris (France).
16. **Amrouche, T. 2005.** Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries : analyse *in vitro* et étude *ex vivo* des mécanismes moléculaires impliqués. Thèse, Université Laval. 175p.
17. **Anderson, J. W., Bridges, S. R. 1981.** Plant-fibre metabolites alter hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetes* 30, 133 A.
18. **Apajalahti, J. Kettunen, A., Belford, M., Holben, W. 2001.** Percent G+C profiling accurately reveals diet-related differences in the gastrointestinal microbial community of broiler chickens. *App. Environ. Microbiol*, 67: 5656- 5667.
19. **Apajalahti, J., Bedford, M., 2000.** Impact of dietary and environmental factors on microbial communities of the avian gut tract.
20. **Apajalahti, J., Kettunen, A. Graham, H. 2004.** Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poultry Science Journal*. 60: 223-232.
21. **Baker, R. A. 1994.** Potential dietary benefits of citrus pectin and fiber. *Food Technology*, 48: 133-139.
22. **Barton, M., 1998.** Does the use of antibiotics in animals affect human health. *Aust. Vet. J*, 76 (3).
23. **Basmacioglu, H., Tokusoglu, O., Ergul, M. 2004.** The effect of oregano and rosemary essential oils or alpha-tocopheryl acetate on performance and lipid oxidation of meat enriched with n-3 PUFA's in broilers. *South African Journal of Animal Science*, 34: 197-210.

- 24. Baurhoo, B., Phillip, L., Ruiz-Feria, C. A. 2007.** "Effects of purified lignin and mannaoligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens." *Poult Sci*, 86(6): 1070-1078.
- 25. Behboudi, H., Esmailipour, O., Mirmahmoudi, R., Mazhari, M. 2016.** The Influence of Drinking Water Containing Lemon Juice and Thyme Supplemented Diet on Performance and some Blood Parameters of Broilers under Heat Stress. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6: 169-174.
- 26. Behira, B. 2012.** Contribution à l'étude des espèces de lactobacilles à caractère probiotique isolées de la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*) de l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université d'Oran. 134 p.
- 27. Belaid, D. 2015.** L'élevage avicole en Algérie. Livre aviculture. 66 p.
- 28. Benarbia, M. E. A., Arniaz, V., Caussilas, A., Garcia, J. M., Chicoteau, P. 2016.** Effect of citrus extract and saponins plant extract on broiler zootechnical performances : comparative study to synthetic growth promoters. 15. BOKU-Symposium Tiernähtung.
- 29. Bok, S. H., Lee, S. H., Park, Y. B., Bae, K. H., Son, K. H., Jeong, T. S., Choi, M. S. 1999.** Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *The Journal of nutrition*, 129: 1182-1185.
- 30. Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Florou-Paneria, P., Christaki, F., Spais, A. B. 2003.** Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and alpha-tocopheryl acetate supplementation. *Food Research International*, 36: 207-213.
- 31. Bourgeois, C. M., Leveau, J. Y., 1991.** "Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires", tome 3: le contrôle microbiologique. Editions Lavoisier (Paris - FRA), 454 p.
- 32. Butaye, P., Devriese, L.A., Haesebrouck, F. 2005.** Effect of Avilamycin Fed to Chickens on *E. faecium* Counts and on the Selection of Avilamycin-Resistant *E. faecium* Populations. *Microbial Drug Resistance*, 11 (2) : 170-177.
- 33. Cabuk, M., Bozkurt, M., Alcicek, A., Akbas, Y., Kucukyilmaz, K. 2006.** Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *South African Journal of Animal Science*, 36: 135-141.
- 34. Carrière, J., Roinsard, A. 2015.** Alimentation des volailles en agriculture biologique. <https://www.bio-bretagne-ibb.fr/wp-content/uploads/Alimentation-Volailles-BioCahierTechnique-juin2015.pdf>

- 35. Chafai, S. 2006.** Effet de l'addition de probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances zootechniques du poulet de chair. Mémoire de magister en nutrition. Université hadj Lakhdar Batna. 97p.
- 36. Chanthaphon, S., Chanthachum, S., Hongpattarakere, T. 2008.** Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 30 (1), 125-131.
- 37. Chaudry, M., Badshah, A., Bibi, N., Zeb, A., Ahmed, T., Ali, S; Meulen, U.T. 2004.** Citrus waste utilization in poultry rations. *Archiv fur Geflugelkunde*: 206-210.
- 38. Choct, M., 2001.** Alternatives to in-feed antibiotics in monogastric animal industry. *ASA Technical bulletin*, AN 30:1-6.
- 39. Chouder, N. 2006.** Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. Mémoire de magister en aviculture et pathologie aviaire. Université Mentouri Constantine. 190 p.
- 40. Combo, A. M. M., Mario, A., Paquot, M. 2011.** Les oligosaccharides pectiques: production et applications possibles. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement= Biotechnology, Agronomy, Society and Environment [= BASE]*, 15(1) : 153-164.
- 41. Corpet, D. E. 2000.** Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les additifs alimentaires antibiotiques. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 151(2) : 99-104.
- 42. Cowan, M. M. 1999.** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-582.
- 43. Crévieu-Gabriel, I., Gomez, J., Caffin, J.P., Carré, B. 1999.** Comparison of pig and chicken pepsins for protein hydrolysis. *Reprod. Nutr. Dev*, 39: 443-454.
- 44. Cross, D. E., Mcdevitt, R. M., Hillman, K ; Acamovic, T. 2007.** The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *British Poultry Science*, 48: 496-506.
- 45. Daglia, M. 2011.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 1-8.
- 46. Delzenne, N. M. 2003.** Oligosaccharides: state of the art. *Proceedings of the nutrition Society*, 62(1), 177-182.
- 47. Denbow, D. M. 1999.** Gastrointestinal anatomy and physiology. In: *Sturkie's Avian Physiology* (ed. by Whittow GC).
- 48. Deplancke, B., Gaskins, H. R. 2001.** Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *The American journal of clinical nutrition*, 73(6) : 1131S-1141S.

- 49. Dibner, J., Richards, J. 2005.** Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry science*, 84: 634-643.
- 50. Dieumou, F. E., Tegua, A., Kuate, J. R., Tamokou, J. D., Fonge, N. B., Dongmo, M. C. 2009.** Effects of ginger (*Zingiber officinale*) and garlic (*Allium sativum*) essential oils on growth performance and gut microbial population of broiler chickens. *Livestock research for rural development*, 21: 131.
- 51. Djeddar, R., Benarbia, M. E. A., Chicoteau, P. 2017.** Aqueous citrus extract supplementation affects gut microbiota and histological parameters of broiler chicken. Symposium on gut health in production of food animals.
- 52. Dosso, S. 2014.** Analyse des pratiques avicoles et de l'usage des antibiotiques en aviculture moderne dans le département d'agnibilekrou (cote d'ivoire). Thèse de doctorat, Université Cheikh ANTADIOP De DAKAR. 153p.
- 53. Doyle, M. E. 2001.** Alternatives to antibiotic use for growth promotion in animal husbandry. *Food research Institute*, 1-12.
- 54. Dusart, L. 2015.** Alimentation des volailles en agriculture biologique. <https://www.bio-bretagne-ibb.fr/wp-content/uploads/Alimentation-Volailles-BioCahierTechniquejuin2015.pdf>.
- 55. Ebrahimi, A., Qotbi, A. A. A., Seidavi, A., Bahar, B. 2014.** The effects of dietary supplementation of *Citrus sinensis* peel extract on production and quality parameters of broiler chicken. *Journal of applied animal research*, 42: 445-450.
- 56. Ebrahimi, A., Qotbi, A. A. A., Seidavi, A., Laudadio, V., Tufarelli, V. 2013.** Effect of different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) peel on broiler chickens growth performance. *Archiv Tierzucht*, 2: 11-17
- 57. Ebrahimi, A., Qotbi, A., Seidavi, A., Edens, F., Laudadio, V; Tufarelli, V. 2016.** selected plasma constituents of broiler chickens fed different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) peels. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, 26: 949-955.
- 58. Ebrahimi, A., Santini, A., Alise, M., Pourhossein, Z., Miraalami, N., Seidavi, A. 2015.** Effect of Dried Citrus Sinensis Peel on Gastrointestinal Microbiota and Immune System Traits of Broiler Chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 14: 4194.
- 59. Elhardallou, S. B., Babiker, W. A., Sulieman, A. M. E; Gobouri, A. A. 2015.** Effect of Diet Supplementation with Food Industry By-Products on Diabetic Rats. *Food and Nutrition Sciences*, 6: 875.
- 60. Erhan, M., Bölükbaşı, Ş. 2017.** Citrus Peel Oils Supplementation in Broiler Diet: Effects on Performance, Jejunum Microflora and Jejunum Morphology. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 19: 15-22.

- 61. Ferrando, R. 1991.** Facteurs de croissance en élevage antibiotiques et autres. *MAN Microbiologie, aliments, nutrition*, 9(1), 3-11.
- 62. Founou, L. L., Founou, R. C; Essack, S. Y. 2016.** Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. *Frontiers in microbiology*, 7.
- 63. Fuller, R. 2000.** Intestinal Microecology Consultant, www.albertaclassics.com
- 64. Fuller, R., Cole, C. B., Coates, M. E. 1984.** "The role of *Streptococcus faecium* in antibiotic-relieved growth depression in chickens". *Br Poult Sci*, 25: 395- 403.
- 65. Gabriel, I., Mallet, S., Sibille, P. 2005.** La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA Productions Animales*, 18: 309-322.
- 66. Gabriel, I., Mallet, S., Leconte, M., Fort, G., Naciri, M. 2003.** Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens. *Poult. Sci*, 82: 1668-1676.
- 67. Gallaher, D. D., Hassel, C. A., Lee, K. J., Gallaher, C. M. 1993.** Viscosity and fermentability as attributes of dietary fiber responsible for the hypocholesterolemic effect in hamsters. *The Journal of nutrition*, 123: 244-252.
- 68. Genestie, B. 2006.** Optimisation de la production d' arabinoxylo oligosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales : Approches méthodologiques. Thèse de doctorat de l'université de Limoges. 217p
- 69. Ghasemi, K., Ebrahimzadeh, B., Ali, M., 2009.** Antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci*, 22 (3): 277-281
- 70. Ghasemzadeh, I., Hawa, Z. E., Asmah Rahmat, J., 2011.** Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*zingiber officinale roscoe*) extracts, University Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, *Malaysia AJCS* 7(7): 1016-1023.
- 71. Gibson, G. R., Roberfroid, M. B. 1995.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.*, 125(6): 1401-1412.
- 72. Gilbert, E. R., Li, H., Emmerson, D. A., Webb, K. E., Wong, E. A. 2010.** Dietary protein composition influences abundance of peptide and amino acid transporter messenger ribonucleic acid in the small intestine of 2 lines of broiler chicks. *Poultry Science*, 89: 1663-1676.
- 73. Gill, H. S., Rutherford, K. J., Prasad, J., Gopal, P. K. 2002.** Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Br. J. Nutr*, 83 : 167-176.

- 74. Goddeeris, B. M., Boersma, W. J. A., Cox, E., Mast, J., Van der Stede, Y., Koenen, M. E., Van den Broeck, W. 2002.** The porcine and avian intestinal immune system and its nutritional modulation. *Nutrition and health of the gastrointestinal tract, Wageningen Academic publishers*, 97-134.
- 75. Grajek, W., Olejnik, A., Sip, A. 2005.** Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *ACTA Biochimica. Polonica*, 52 (3): 665–671.
- 76. Guardia, S. 2011.** Effets de phytobiotiques sur les performances de croissance et l'équilibre du microbiote digestif du poulet de chair. Thèse de doctorat. Université François-Rabelais de Tours. 478 p.
- 77. Guban, J., Korver, D., ALLison, G., Tannock, G. 2006.** Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of *Lactobacillus salivarius*, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. *Poultry science*, 85: 2186-2194.
- 78. Hadj Said, O., Benchouni, O. E. K. 2013.** Activité prébiotique des hydrolysats des polysaccharides extraits de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans le Sahara Algérien (région de Ghardaïa). Mémoire de Master académique en Microbiologie Appliquée. 64 p.
- 79. Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3), 1126-1134.
- 80. Hazelwood, R., Langslow, D. 1978.** Intrapancreatic regulation of hormone secretion in the domestic fowl, *Gallus domesticus*. *Journal of Endocrinology*, 76: 449-459.
- 81. Hegazy, A. E., Ibrahim, M. I. 2012.** Antioxidant Activities of Orange Peel Extracts. *World Applied Sciences Journal*, 18 (5): 684-688.
- 82. Herzberg, G. R., Rogerson, M. 1988.** Hepatic fatty acid synthesis and triglyceride secretion in rats fed fructose-or glucose-based diets containing corn oil, tallow or marine oil. *The Journal of nutrition*, 118: 1061-1067.
- 83. Hooper, L.V., Wong, M.H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P.G., Gordon, J. I. 2001.** Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*, 291: 881-884.
- 84. Hoque, M. Z., Akter, F., Hossain, K.,M., Rahman, M. S. M., Billah, M. M., Islam, K. M. D. 2010.** Isolation, identification and analysis of probiotic properties of *Lactobacillus* spp. from selective regional yoghurts. *World journal of dairy & food sciences*, 5: 39- 41.

- 85. Huyghebaert, G., Ducatelle, R., Van immerseel, F. 2011.** An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*, 187: 182-188.
- 86. Jamroz, D., Wertelecki, T., Houszka, M., Kamel, C. 2006.** Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90: 255–268.
- 87. Jamroz, D., Wiliczekiewicz, A., Wertelecki, T., Orda, J., Scorupinska, J. 2005.** Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and domestic grains. *British Poultry Science*, 46: 485-493
- 88. Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., Reddy, D. N. 2015.** Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroentero*, 21(29): 8787-8803
- 89. Jang, I. S , Ko, Y. H , Yang, H. Y , Ha, J. S , Kim, J. Y , Kang, S. Y, Yoo, D. H , Nam, D. S , Kim, D. H., Lee, C. Y. 2004.** Influence of essential oil components on growth performance and the functional activity of the pancreas and small intestine in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 17: 394–400.
- 90. Jean-Blain, C., 2002.** Introduction à la nutrition des animaux domestiques. Edition. Médicales internationales. Ed. Médicales. Internationales. Tec et Doc.
- 91. Jones, F.T. Ricke S.C. 2003.** "Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds." *Poult Sci*, 82(4): 613-617.
- 92. Jozefiak, D., Rutkowski A., Martin S.A. 2004.** Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113: 1-15.
- 93. Juin, H., Elgaard, T., Chicoteau, P. 2003.** effect of a citrus extract (Nor-Spice AB) on broiler performances; Spring Meeting of the WSPA French Branch Meeting Abstracts, 810: 811. INRA Rapport d'essai : Reference 02/HD3/PD/010.
- 94. Jurani, M., Lamosova, D., Macajova, M., Kostal, L., Joubert, E., Greksak, M. 2008.** Effect of rooibostea (*Aspalathus linearis*) on Japanese quail growth, egg production and plasma metabolites. *British Poultry Science*, 49: 55-64.
- 95. Kamel, C. 2000.** A novel look at a classic approach of plant extracts. *Feed Mix* 11: 19-21
- 96. Kaplan, A et al. 1984. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton;** 1194-11206 and 437.
- 97. Kassas, Z. 2017.** Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié. Thèse de doctorat. Université de BADJI MOKHTAR. 158 p.

- 98. Katsunuma, Y., Hanazumi, M., Fujisaki, H., Minato, H., Hashimoto, Y; Yonemochi, C. 2007.** Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* and enterococci in the feces of livestock and livestock farmers in Japan. *The Journal of general and applied microbiology*, 53: 273-279.
- 99. Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., & Chemat, F. 2010.** Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2), 851-858.
- 100. Kirbaşlar, F.G., Tavman, A., Dülger, B; Türker, G. 2009.** Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. *Pak J Bot*, 41: 3207-12.
- 101. Klasing, K. C. 1998.** Digestion of food. In: Comparative avian nutrition. Cab International.
- 102. Klasing, K. C., Johnstone, B. J., Benson, B. N. 1991.** Implications of an immune response on growth and nutrient requirements of chicks. *Recent advances in animal nutrition*, 135-146.
- 103. Kruse, H., Johansen, B. K., Rørvik, L. M., Schaller, G. 1999.** The use of avoparcin as a growth promoter and the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus* species in Norwegian poultry and swine production. *Microbial Drug Resistance*, 5(2), 135-139.
- 104. Kumar, S., Sharadamma, K.C., Radhakrishna, P.M. 2010.** Effects of a garlic active based growth promoter on growth performance and specific pathogenic intestinal microbial counts of broiler chicks. *International Journal of Poultry science*. 9: 244-246.
- 105. Lagha-Benamruche, S., Madani, k., 2013.** Phenolic contents and antioxidant activity orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and Leaves. *Ind. Crop Product*, 50:723–730.
- 106. Lallès, J. P., Bosi, P., Janczyk, P., Koopmans, S. J., Torrallardona, D. 2009.** Impact of bioactive substances on the gastrointestinal tract and performance of weaned piglets: a review. *Animal*, 3(12), 1625-1643.
- 107. Lanza-Jacoby, S. 1986.** Effect of continuous and discontinuous intravenous or intragastric total parenteral nutrition in rats on serum lipids, liver lipids and liver lipogenic rates. *The Journal of nutrition*, 116: 733-741.
- 108. Lee, K. W., Everts, H., Kappert, H. J., Frehner, M., Losa, R., Beynen, A. C. 2003.** Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science*, 44:450–457.

- 109. Lee, K. W., Kim, J. S., OH, S. T., Kang, C. W., AN, B. K. 2015.** Effects of dietary sanguinarine on growth performance, relative organ weight, cecal microflora, serum cholesterol level and meat quality in broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, 52: 15-22.
- 110. Lee, K.W., Everts, H ; Beynen, A.C. 2004. Essential oils in broiler nutrition.** *International Journal of Poultry science*, 3: 738-752.
- 111. Leeson, S., Namkung, H., Antongiovanni, M., Lee, E. H. 2005.** "Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens." *Poult Sci*, 84(9): 1418-1422.
- 112. Lewis, M. R., Rose, S. P., Mackenzie A. P., Tucker, L.A. 2003.** Effects of dietary inclusion of plant extracts on the growth performance of male broiler chickens. *British Poultry Science*, 44: S43-S44.
- 113. Lorient, D. 1998.** Modifications biochimiques des constituants alimentaires. F 3 400, *Traité Agroalimentaire*, vol. F1.
- 114. Lu, J., Idris, U., Harmon, B., Hofacre, C., Maurer, J. J., Lee, M. D. 2003.** Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Applied and Environmental Microbiology*,. 69: 6816-6824.
- 115. Macpherson, A. J., Gatto, D., Sainsbury, E., Harriman, G. R., Hengartner, H., Zinkernagel, R. M. 2000.** A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science*, 288(5474), 2222-2226.
- 116. Mahmood, S., Mushtaq-Ul-Hassan, M., Alam, M., Ahmad, F. 2009.** Comparative efficacy of *Nigella sativa* and *Allium sativum* as growth promoters in broilers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 775-778.
- 117. Malayoglu, H. B., Baysal, S., Misirlioglu, Z., Polat, M., Yilmaz, H., Turan, N. 2010.** Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. *British Poultry Science*, 51: 67-80.
- 118. Mallet, S., Bouvarel, I., Lessire, M. 2001.** Facteurs de variations de la microflore intestinale des oiseaux domestiques : impact de l'alimentation. 4^e Journ. *Rech. Avicoles*. Nantes, France, 22-29 Mars, 159-164.
- 119. Mallet, S., Delord, P., Juin, H., Lessire, M. 2005.** Effect of in feed talc upplementation on broiler performance. *Anim. Res*, 54 : 485–492.
- 120. Mandalari, G., Nueno Palop, C., Tuohy, K., Gibson, G. R., Bennett, R. N., Waldron, K. W., Bisignano, G., Narbad, A., Faulds, C. B. 2007.** In vitro evaluation of the

prebiotic activity of a pectic oligosaccharide-rich extract enzymatically derived from bergamot peel. *Appl Microbiol Biotechnol*, 73: 1173–1179.

121. Marchal, N., Bourdon, J. L., Richard, C. 1987. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.

122. Marteau, P., Shanahan, F. 2003. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol*, 17: 725-740.

123. Mathouthi, N., Mallet, S., Saulnier, L., Quemener, B., Larbier, 2002. Effects of xylanase and b-glucanase addition on performance, nutrient digestibility and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. *Anim. Res*, 51 : 395-406.

124. Meattini F. et al. 1978. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin Chem*, 24 (12): 2161-2165.

125. Mensah, S. E. P., Koudandé O. D., Sanders, P., Laurentie, M., Mensah, G. A., Abiola, F. A. 2014. Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 33 (3) : 1-27.

126. Miles, R., Butcher, G., Henry, P; Littell, R. 2006. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poultry Science*, 85: 476-485.

127. Miliauskas, G., Vanskuànis, P. R., van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chem*. 85: 231-237.

128. Modi, C., Mody, S., Patel, H., Dudhatra, G., Kumar, A; Sheikh, T. 2011. Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. *J Appl Pharm Sci*, 1(08), 33-6.

129. Mohamed Said, R. 2015. Etudes qualitatives et quantitatives des résidus d'antibiotiques dans la viande de volaille et les œufs dans la région de la Mitidja. Utilisation des probiotiques comme alternative. Thèse de doctorat en sciences biologiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou.p 159.

130. Moore, P. R., Evenson, A., Luckey, T. D., McCoy, E., Elvehjem, C. A., Hart, E. B. 1946. "Use of sulfasuxidine, stretothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick." *J Biol Chem*, 165: 437-441.

131. Moran, E. T., 2005. Accommodating the omission of antimicrobials from Intensive Animal Production. Poultry Science Department, Auburn University. 26th Nutrition Conference, September 21 – 23, page 3.

- 132. Moran, E.T. 1982.** Comparative nutrition of fowl and swine: the gastrointestinal systems. University of Guelph, Ontario, Canada.
- 133. Moreau, M. C., Gaboriau-Routhiau, V. 2000.** Influence of resident intestinal microflora on the development and functions of the intestinal-associated lymphoid tissue. In *Probiotics 3* (pp. 69-114). Springer, Dordrecht.
- 134. Muir, W. I., Bryden, W. L., Husband, A. J. 2000.** Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Developmental & Comparative Immunology*, 24 (2-3), 325-342.
- 135. Mukhtar, A., Mohamed, K., Amal, O., Ahlam, A. 2012.** Effect of different levels of lemon grass oil (lgo) as anatural growth promoter on the performance, carcass yields and serum chemistry of broiler chicks. *Egypt Poult Sci*, 33: 1-7.
- 136. Naderi, M., Akbari, M. R., Asadi-Khoshoei, E., Khaksar, K., Khajali, F. 2014.** Effects of Dietary Inclusion of Turmeric (*Curcuma longa*) and Cinnamon (*Cinnamomum verum*) Powders on Performance, Organs Relative Weight and Some Immune System Parameters in Broiler Chickens. *Poultry Science Journal*, 2 (2): 153-163
- 137. Nazok, A., Rezaei, M; Sayyahzadeh, H. 2010.** Effect of different levels of dried citrus pulp on performance, egg quality, and blood parameters of laying hens in early phase of production. *Tropical animal health and production*, 42: 737-742.
- 138. Niewold, T. A. 2007.** "The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis." *Poult Sci*, 86(4): 605-609.
- 139. Nobakht, A. 2013.** Effects of Different Levels of Dried Lemon (*Citrus aurantifolia*) Pulp on Performance, Carcass Traits, Blood Biochemical and Immunity Parameters of Broilers. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 3.
- 140. Nunes, R.V., Scherer, C., Pozza, P.C., Eyng, C., Bruno, L. D. G, Vieites, F. M. 2012.** Use of probiotics to replace antibiotics for broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41: 2219-2224.
- 141. Nwankwo, C. M., Ezekoye, C. C., Igbokwe, S. O. 2014.** Phytochemical screening and antimicrobial activity of apiary honey produced by honey bee (*Apis mellifera*) on clinical strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *African Journal of Biotechnology*, 13(23): 2367-2372.
- 142. Obidi, O. F., Adelowotan, A. O., Ayoola, G. A., Johnson, O. O., Hassan, M. O., Nwachukwu, S. C. U. 2013.** Antimicrobial activity of orange oil on selected pathogens. *The International Journal of Biotechnology*, 2(6):113-122.
- 143. Omer, H. A. A., Bassuony, N. I., Motawe. H.F.A., Ahmed, S. M. 2016.** Response of Broiler Chickens to Diets Containing Different Levels of Natural Bioactive Mixture

Composed of Lemon, Onion and Garlic Juice. *International Journal of Pharm Tech Research*, 9 (12): 892-903.

144. Orayaga, K., Oluremi, O; Adenkola, A. 2016. Effect of water soaking of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit peels on haematology, carcass yield and internal organs of finisher broiler chickens. *J. Anim. Health Prod*, 4: 65-71.

145. Pandey, A., Kaushik, A., Sudeep, K.T. 2011 .Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical analysis of Citrus limon. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 13(17).

146. Parmar, H. S., Kar, A. 2007.Antidiabetic potential of Citrus sinensis and Punica granatum peel extracts in alloxan treated male mice. *Biofactors*, 31: 17-24.

147. Petersen, J. S. 2002. "Animal welfare and health as affected by management procedures in commercial broiler flocks." The International Invitational Symposium: Beyond Growth Promoters in Food Animal Production, Foulum, Denmark.

148. Piva, G., Rossi, F., 1999. Possible alternatives to the use of antibiotics as growth promoter's .New additives. Ciheam. p. 83-106.

149. Platel, K ; Srinivasan K. 2004. Digestive stimulant action of spices : A myth or reality? *Indian Journal of Medical Research*, 119: 167-179.

150. Pourhossein, Z., Qotbi, A.A.A; Seidavi, A. 2012. Investigation on the effects of different levels of Citrus sinensis peel extract on gastrointestinal microbial population in commercial broilers. *African Journal of Microbiology Research*, 6: 6370- 6378.

151. Ribeiro, F. 2014. Réguler la microflore intestinale au moyen de symbiotiques. <https://www.biomin.net>

152. Rihani, N. 1991. Valeur alimentaire et utilisation des sous-produits des agrumes en alimentation animale. In : Tisserand J.-L. (ed.), Alibés X. (ed.). Fourrages et sous-produits méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, p. 113-117 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, n. 16)

153. Riyazi, S. R., Ebrahimnezhad, Y., Hosseini, S. A., Meimandipour, A., Ghorbani, A. 2015. The effects of the avilamycin, Protexin® and basil essential oil supplements on ileal bacteria of broiler chickens. *Veterinary Science Development*, 5.

154. Rogel-Gaillard, C. 2014. Le microbiote intestinal: un compartiment biologique à explorer chez les animaux d'élevage. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.

155. Roussou, V. 2004. Evaluation d'oligosaccharides à effet prébiotique vis-à-vis de la flore vaginale. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliquées de Toulouse. 186p

- 156. Saleh, G. 1992.** Comparative studies on the performance of some broiler hybrids under certain feeding system. PhD Thesis, Animal Production Department, Minia University, Egypt.
- 157. Salim, H., Kang, H., Akter, N., Kim, D., Kim, J., Kim, M., NA, J., Jong, H., Choi, H. Suh, O. 2013.** Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poultry science*, 92: 2084-2090.
- 158. Samanidou, V.F. and E.N. Evaggelopoulou. 2008.** "Chromatographic analysis of banned antibacterial growth promoters in animal feed." *J Sep Sci*, 31(11): 2091-2112.
- 159. Sanders P. 2005.** L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 158 (2), 139-145.
- 160. Schrezenmeir, J., De Vrese, M. 2001.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr*, 73(2): 361-364.
- 161. Schwob, R., Huet, R. 1965.** Valorisation des sous-produits d'agrumes. *Fruits*, 20 (7): 349-352.
- 162. Sekar, M., Fatimah, P. N., Safwan, N., Syahirah, Z., Krishnaswamy, N., Syafiq, M., Izzaty, E. 2013.** Comparative evaluation of antimicrobial properties of citrus varieties available in Malaysia market. *Int J Curr Pharm Res*, 5 (4): 32-35.
- 163. Sharifi, S. D., Khorsandi, S. H., Khadem, A. A., Salehi, A., Moslehi, H. 2013.** The effect of four medicinal plants on the performance, blood biochemical traits and ileal microflora of broiler chicks. *Veterinarski arhiv*, 83: 69-80.
- 164. Sharma, R., Fernandez, F., Hinton, M., Schumacher, U. 1997.** The influence of diet on the mucin carbohydrates in the chick intestinal tract. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 53: 935-942.
- 165. Simsek, U. G., Dalkilic, B., Ciftci, M., Yuce, A. 2009.** The influences of different stocking densities on some welfare indicators, lipid peroxidation (MDA) and antioxidant enzyme activities (GSH, GSH-Px, CAT) in broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 1568-1572.
- 166. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology*, 299: 152-178). Academic press.
- 167. Siyal, F., Wagan, R., Bhutto, Z., Tareen, M., Arain, M., Saeed, M., Brohi, S; Soomro, R. 2016.** Effect of orange and banana peels on the growth performance of broilers. *Adv Anim Vet Sci*, 4: 376-380.

- 168. Smith, H. W. 1965.** Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. *The Journal of pathology and bacteriology*, 89 (1), 95-122
- 169. Souilem, O., Gogny, M., 1994.** Particularité de la physiologie digestive des volailles. *Med. Vet.*,145(7):525- 537.
- 170. Sourokou Sabi, S. 2014.** Performances zootechnico-economiques des poulets de chair (cobb500) nourris aux rations a base de la farine des graines de la variete verte de bissap (hibiscus sabdariffa, linn.) au senegal. Thèse de doctorat. Université cheikh anta diop de dakar. 140 p.
- 171. Stewart, J.,A., Chadwick, V.S., Murray, A. 2005.** Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children. *Journal of Medical Microbiology*, 54: 1239-1242.
- 172. Takeuchi, T., Kitagawa, H., Imagawa, T., Uehara, M. 1998.** Proliferation and cellular kinetics of villous epithelial cells and M cells in the chicken caecum. *The Journal of Anatomy*,193(2), 233-239.
- 173. Tannock, G.W., Dashkevicz, M.P., Feighner S.D. 1989.** Lactobacilli and bile salt hydrolase in the murine intestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 1848-1851.
- 174. Tumane, P. M. 2014.** Comparative study of antibacterial activity of peel extracts of *Citrus aurantium* L.(bitter orange) and *Citrus medica* L.(lemon) against clinical isolates from wound infection. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 5(1): 382-387.
- 175. Uchechi, N., Ekwenye Oghenerobo, V., Edeha., 2010.** The antibacterial activity of crude Leaf extracts of *Citrus sinensis* (Sweet Orange). *Flavour and Fragrance Journal*,14:322-332.
- 176. Unnisa, N., Tabassum, H., Ali, M. N., Ponia, K. 2012.** Evaluation of antibacterial activity of five selected fruits on bacterial wound isolates. *Pomegranate (Punica granatum L.)*. *Int J Pharm Bio Sci*, 3(4): 531- 546.
- 177. Vidanarachchi, J., Elangovan, A., Mikkelsen, L., Choct, M., IJI, P. 2010.** Effect of some plant extracts on growth performance, intestinal morphology, microflora composition and activity in broiler chickens. *Animal Production Science*, 50: 880-889.
- 178. Vieira, S.L., Oyarzabal, O., Freitas, D., Berres, J., Pena, J., Torres, C., Coneglian, J. 2008.** Performance of broilers fed diets supplemented with sanguinarine-like alkaloids and organic acids. *Journal of applied poultry research*, 17: 128-133.
- 179. Villate. D., 2001.** Maladies des volailles. Edt France Agricole. (2ème edition).L'appareil digestif, pages 27-38.

- 180. Visek, W. J. 1978.** "Diet and cell growth modulation by ammonia." *Am J Clin Nutr*, 31(10): S216-S220.
- 181. Vuuren, M. 2001.** Antibiotic resistance, with special reference to poultry production. Proceedings of the Conf OIE, pp. 135-146.
- 182. Wellenreiter, R. H., Mowrey, D. H., Stobbs, L. A., D'assonville, J. A. 1999.** Effects of avilamycin on performance of broiler chickens. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine*, 1: 118-124.
- 183. White, D. G., McDermott, P. F., 2001.** Emergence and Transfer of antibacterial resistance. *J. Dairy Sci*, 84: 151-155.
- 184. Wielen, P.W., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B.A.P., Knapen F.N., 2000.** Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 2536-2540.
- 185. Windisch, W. M., Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A. 2008.** Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86 (E. Suppl.), 140-148.
- 186. Wink, M. 2008.** Evolutionary advantage and molecular modes of action of multi-component mixtures in phytomedicine. *Current Drug Metabolism*, 9: 996-1009.
- 187. Yakhkeshi, S., Rahimi, S., Hemati Matin, H. 2012.** Effects of yarrow (*Achillea millefolium* L.), antibiotic and probiotic on performance, immune response, serum lipids and microbial population of broilers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14: 799-810.
- 188. Zhou, T., Chen, Y., Yoo, J., Huang, Y., Lee, J., Jang, H., Shin, S., Kim, H., Cho, J., Kim, I. 2009.** Effects of chitooligosaccharide supplementation on performance, blood characteristics, relative organ weight, and meat quality in broiler chickens. *Poultry science*, 88: 593-600.
- 189. Zhu, X. Y., Zhong, T.Y., Pandya, Y., Joerger, R. D. 2002.** 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 124-137.

ANNEXES



ANNEXES

Annexe 01. Espèces de Citrus utilisés dans l'étude expérimentale



Citrus sinensis L. var. Thomson Navel



Citrus limonum L.



Nor-Spice AB® poudre

(NOR-FEED SAS, Angers Technopole - 3, rue Amedeo Avogadro - 49070 BEAUCOUZÉ – France)

ANNEXES

Annexe 02. Composition des milieux de culture utilisés

Milieu de MacConkey

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone pancréatique de gélatine	17,0
Tryptone.....	1,00
Peptone pepsique de viande.....	1,50
Lactose.....	10,0
Sels biliaires.....	1,50
Chlorure de sodium.....	5,00
Rouge neutre.....	0,03
Cristal violet.....	0,001
Agar bactériologique	13,5

pH 7.1 ± 0.2.

Milieu BEA

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Extrait autolytique de levure	5,0
Tryptone.....	17,0
Peptone pepsique de viande.....	3,0
Bile de bœuf bactériologique	10,0
Sels biliaires.....	1,50
Chlorure de sodium.....	0,5
Citrate ferrique ammoniacal	1,0
Azide de sodium	0,15
Agar bactériologique	13,0

pH 7.1 ± 0.2.

ANNEXES

Gélose MRS

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Polypeptone.....	10,00
Glucose.....	20,00
Extrait autolytique de levure	5,00
Extrait de viande	10,00
Tween 80	1,08
Phosphate dipotassique	2,00
Acétate de sodium.....	5,00
Citrate d'ammonium	2,0
Sulfate de magnésium.....	0,20
Sulfate de manganèse.....	0,05
Agar bactériologique	13.0

pH 6.2 ± 0.2

Gélose Müller –Hinton

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Infusion de viande de bœuf	2,00
Hydrolysate de caséine	17,5
Amidon	1.50
Agar	17.0

pH 7.4 ± 0.2 .

ANNEXES

Bouillon MRS

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Peptone tryptique de caséine.....	10
Macération de viande	500 ml
Extrait de levure	5
Tween 80	1ml
Phosphate dipotassique	2.4
Acétate de sodium.....	5
Citrate diammonique	2
Sulfate de magnésium.....	0,2
Sulfate de manganèse.....	0,05

pH 6.5

API 50 CHL Medium

Polypeptone	10 g
Extrait de levure	5g
Tween 80	1ml
Phosphate dipotassique	5 g
Acétate de sodium.....	5 g
Citrate diammonique	2g
Sulfate de magnésium.....	0,2g
Sulfate de manganèse.....	0,05g
Bromocrésol pourpre.....	0,17g
Eau déminéralisée	1000ml

pH 6.7.

ANNEXES

Annexe 03. Coloration de Gram (Marchal et al., 1982)

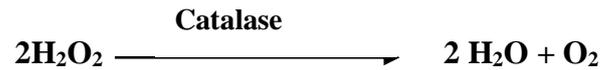
- Préparer un frottis bactérien en transférant un petit fragment d'une colonie dans une goutte d'eau déposée préalablement sur une lame de verre propre.
- Disperser la colonie dans l'eau afin d'obtenir une suspension laiteuse.
- Etaler la suspension sur une surface d'un à deux centimètres carrés.
- La suspension est ensuite séchée de façon à obtenir le frottis. Ce dernier est fixé en le passant rapidement une ou deux fois dans la flamme du bec bunsen.
- Recouvrir le frottis d'une solution de violet de gentiane pendant une minute.
- Verser le lugol et laisser agir pendant 1 minute puis rincer à l'eau distillée.
- Décolorer avec l'alcool à 95% en plaçant la lame dans une position oblique puis rincer à l'eau.
- Recouvrir le frottis avec une solution de fuchsine pendant une minute puis rincer et sécher le frottis.
- Observation microscopique à immersion (X100) : les bactéries à Gram- apparaissent roses et les bactéries à Gram+ se colorent en violet.

Annexe 04 : Tests de la catalase et de l'oxydase

Test de la catalase

➤ Principe

La catalase est une enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène selon la réaction suivante (**Marchal et al., 1982**).



➤ Technique

Une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur est émulsionnée dans une goutte d'eau oxygénée à 3% préalablement déposée sur une lame propre. Une réaction positive se traduit par la formation immédiate de bulles de gaz, par contre l'absence de bulles indique un résultat négatif.

Test de l'oxydase

➤ Principe

Ce test permet de déterminer si la bactérie possède le système enzymatique cytochrome C oxydase lui permettant d'utiliser l'oxygène libre comme accepteur final d'électrons dans sa chaîne respiratoire. La présence de cette enzyme oxyde certains composés chimiques comme l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine (**Marchal et al., 1982**).

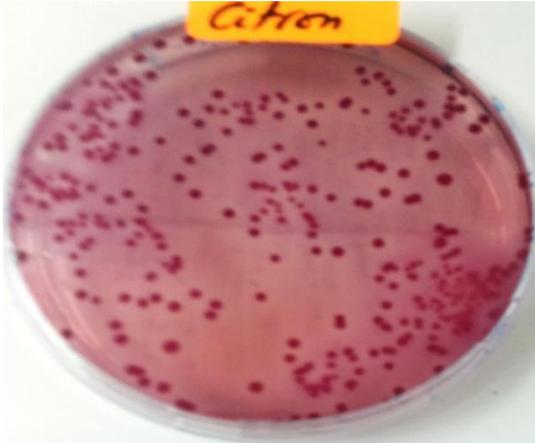
➤ Technique

- Déposer un disque d'oxydase imprégné de l'oxalate de N-Diméthyl Paraphénylène Diamine sur une lame propre.
- Imbiber le disque avec une goutte d'eau.
- Etaler une colonie bactérienne prélevée à l'aide de la pipette pasteur sur le disque

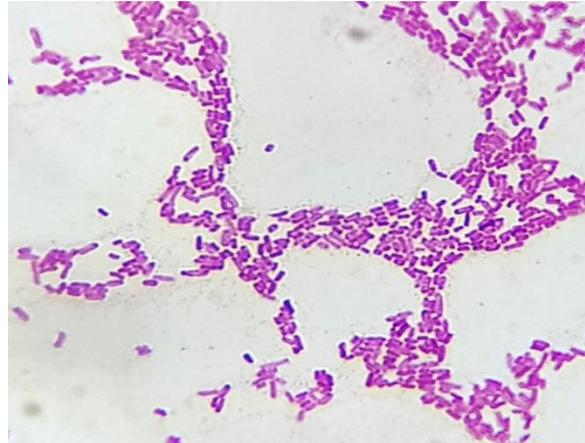
La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit par l'apparition immédiate d'une coloration violet foncé.

ANNEXES

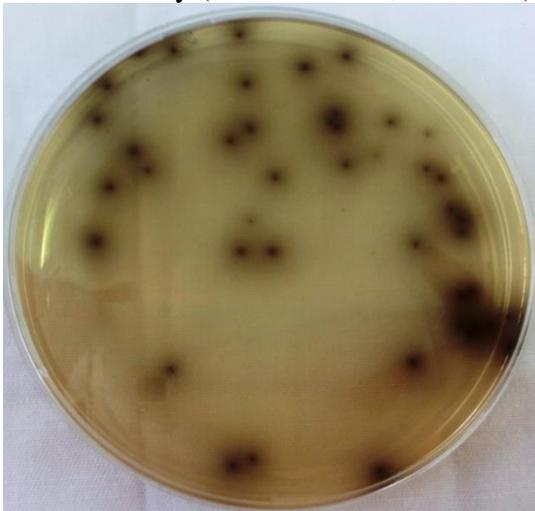
Annexe 05. Aspect macroscopique des colonies bactériennes sur les milieux de culture et morphologie des bactéries au microscope après coloration de Gram



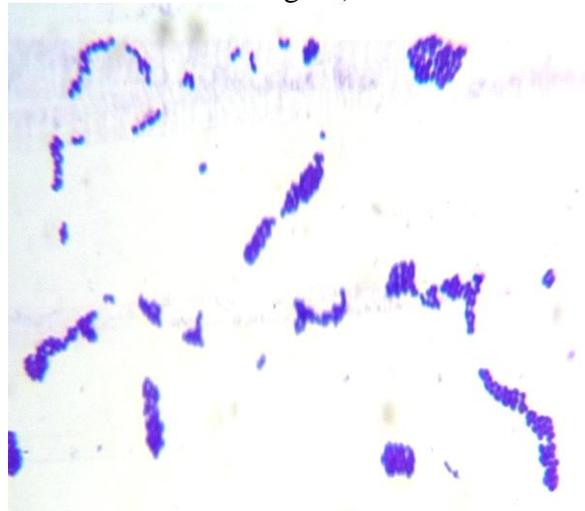
Colonies d'*Escherichia coli* sur le milieu de MacConkey (colonies roses, lactose +)



Morphologie des colibacilles (bacilles à Gram négatif) X100



Colonies d'*Enterococcus* sp. sur le milieu BEA, petites colonies translucides entourées d'un halo noir



Morphologie des entérocoques (Coques de petite taille à Gram positif) X100



Colonies de *Lactobacillus* sp. sur milieu MRS (colonies blanches)



Morphologie des lactobacilles (bacilles à Gram positif) X100

ANNEXES

Annexe 06. Table de lecture de la galerie API 20 E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge ^a	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xyfitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
				incolore-rose pâle	rouge
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase Alcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u>	
				jaune	violet
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u>	
				incolore-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFFinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

ANNEXES

Annexe 07 : Identification biochimique d'*Escherichia coli* par galerie Api 20 E



Profil biochimique d'*Escherichia coli* sur galerie Api 20 E

API

- API 10S
- API 20 A
- API 20 C AUX
- API 20 E
- API 20 NE
- API 20 STREP
- API 50 CHB
- API 50 CHE
- API 50 CHL
- API CAMPY
- API CANDIDA
- API CORYNE
- API LISTERIA
- API NH
- API STAPH
- RAPID 20 E

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip API 20 E V4.1

Profile 5 1 4 4 5 7 2

Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against
Escherichia coli 1	99.5	0.96	
Next taxon	% ID	T	Tests against
Kluyvera spp	0.4	0.53	LDC 25% SOR 25% AMY 99%

Identification du Profil numérique obtenu à l'aide du logiciel d'identification **Apiweb™**

ANNEXES

Annexe 08. Identification biochimique de *Lactobacillus* par galerie Api 50CH



Profil biochimique de *Lactobacillus brevis* sur galerie Api 50 CH





API 50 CHL V5.1 Printout Export New test Modify

REFERENCE DATE
COMMENT 4/14/17

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip API 50 CHL V5 1

Profile -----++++-----

Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against
Lactobacillus brevis 1	99.9	0.82	5KG 14%
Next taxon	% ID	T	Tests against
Lactococcus lactis ssp lactis 1	0.1	0.36	RIB 95% MEL 13% RAF 9% 5KG 0%

API

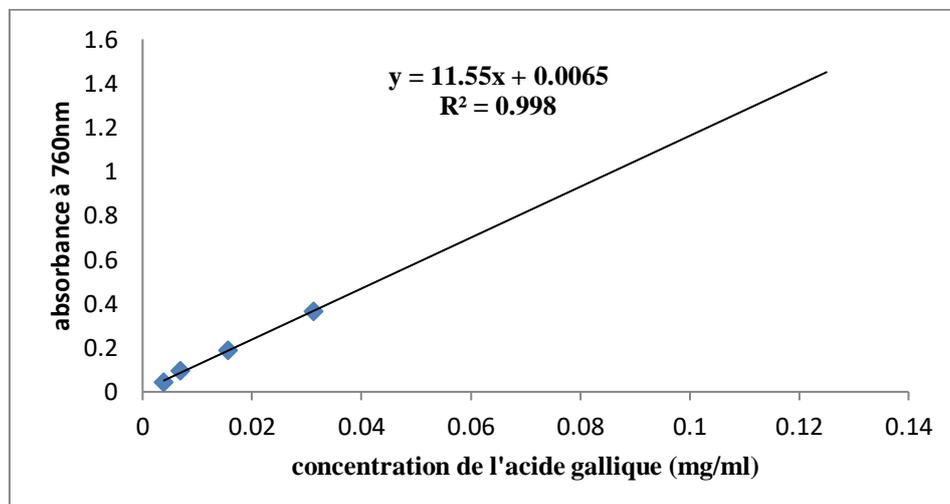
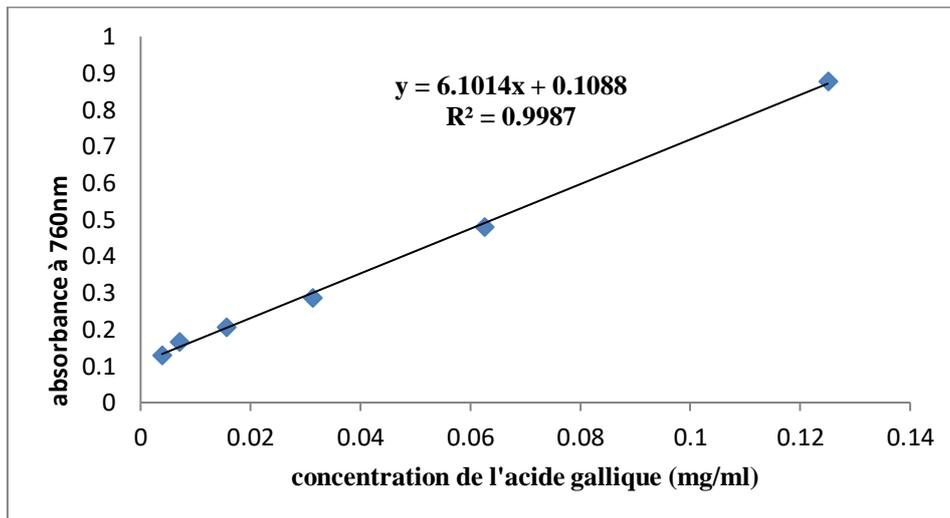
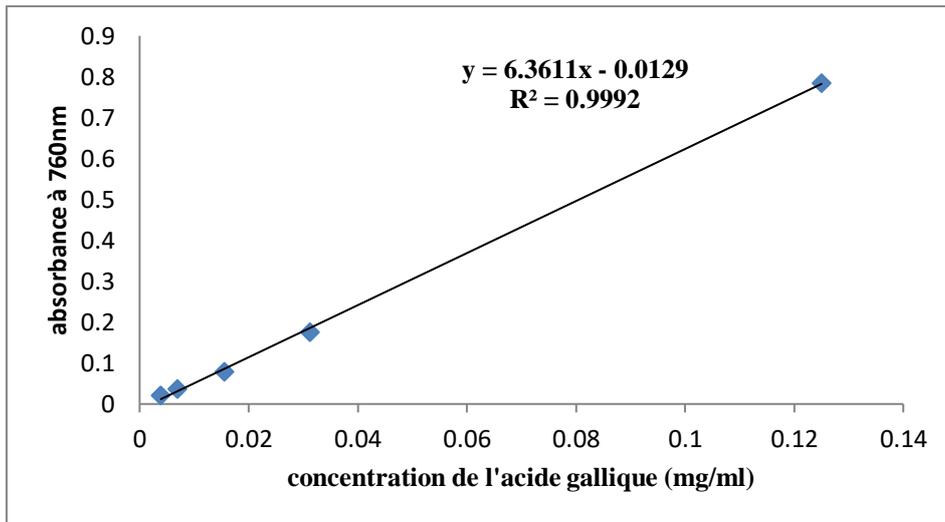
- API 10S
- API 20 A
- API 20 C AUX
- API 20 E
- API 20 NE
- API 20 STREP
- API 50 CHB
- API 50 CHE
- API 50 CHL
- API CAMPY
- API CANDIDA
- API CORYNE
- API LISTERIA
- API NH
- API STAPH
- RAPID 20 E

ID32

Identification du profil obtenu à l'aide du logiciel d'identification **apiweb™**

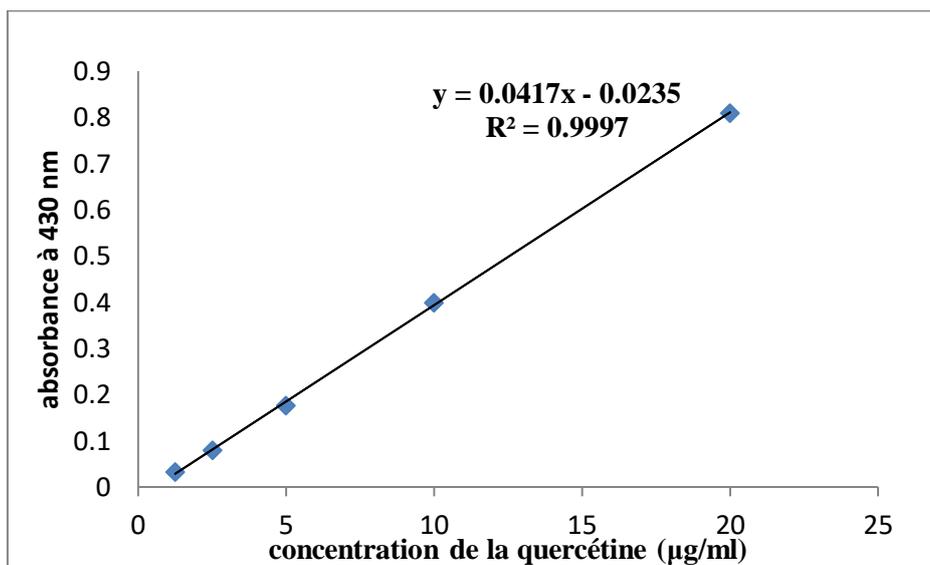
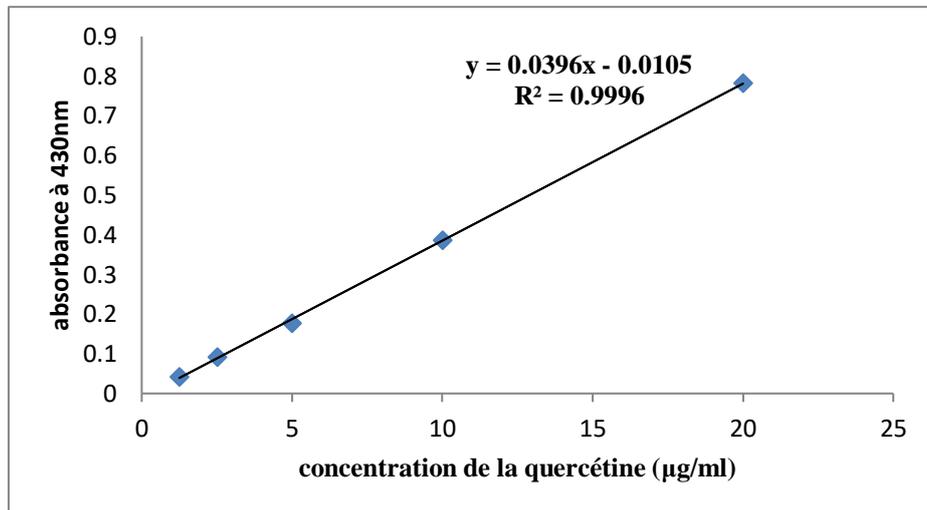
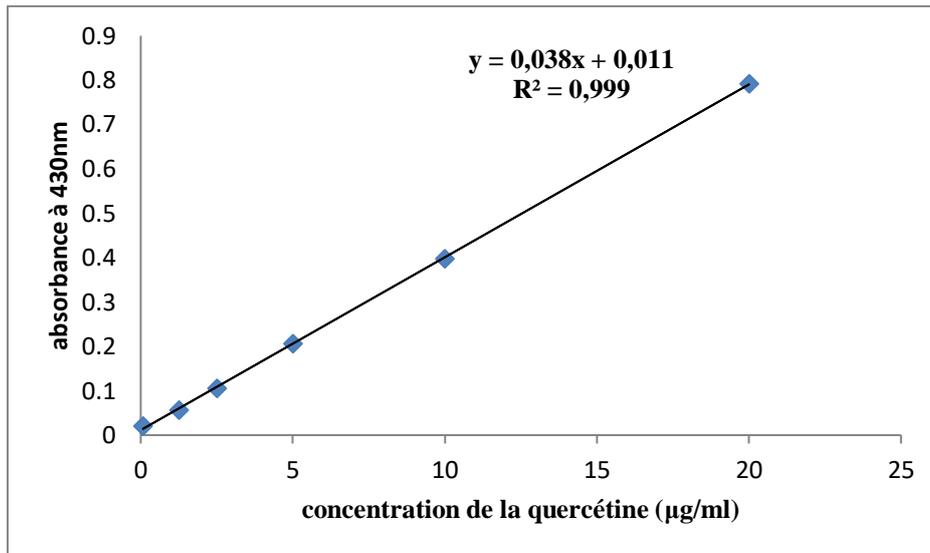
ANNEXES

Annexe 09. Courbes d'étalonnage de l'acide gallique



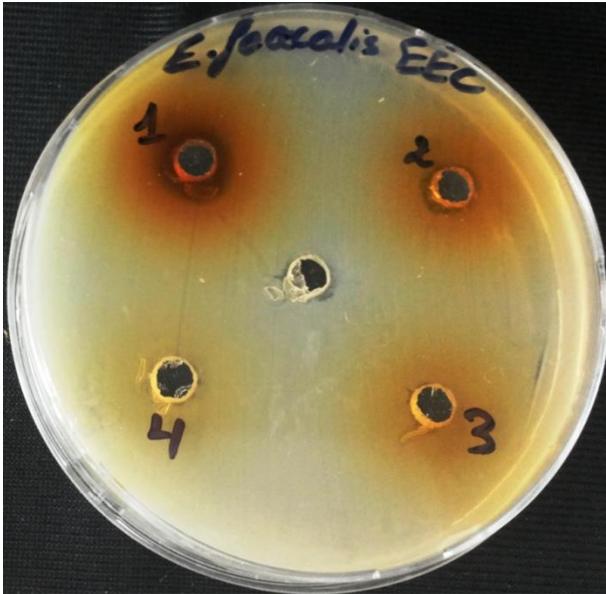
ANNEXES

Annexe 10. Courbes d'étalonnage de la Quercétine

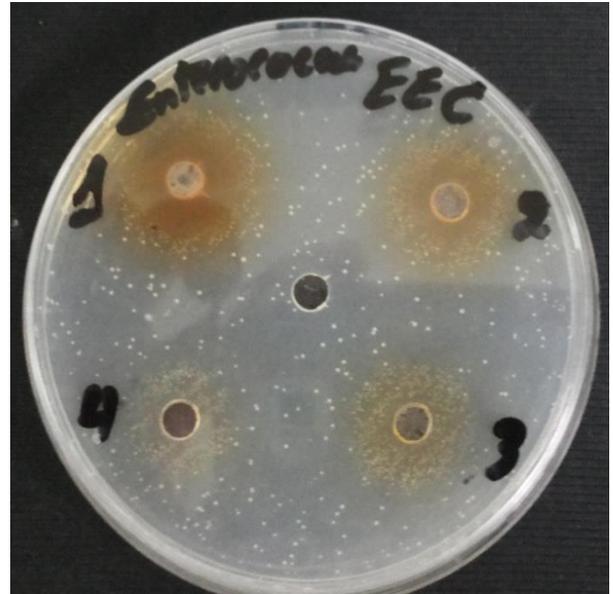


ANNEXES

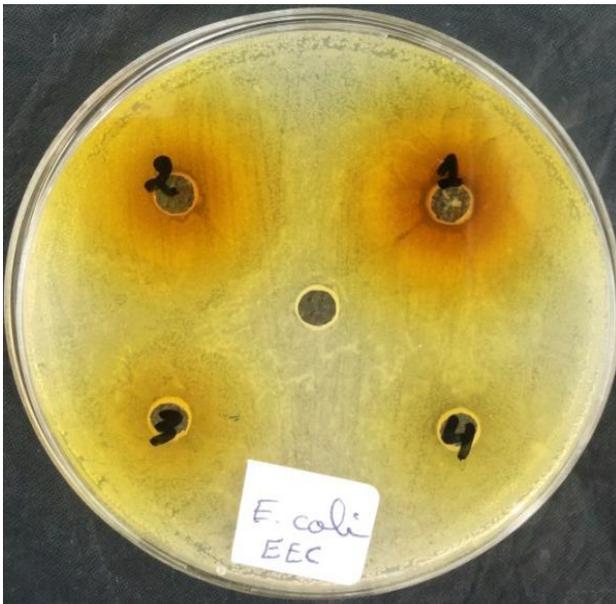
Annexe 11. Effet antibactérien de l'extrait phénolique de l'écorce du citron sur les souches testées



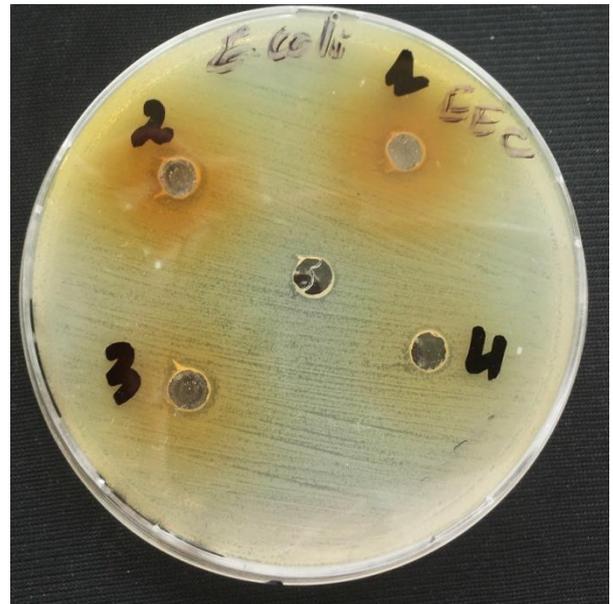
Enterococcus faecalis ATCC 19433



Enterococcus sp.



Escherichia coli ATCC 25922



Escherichia coli

1= 500mg/ml

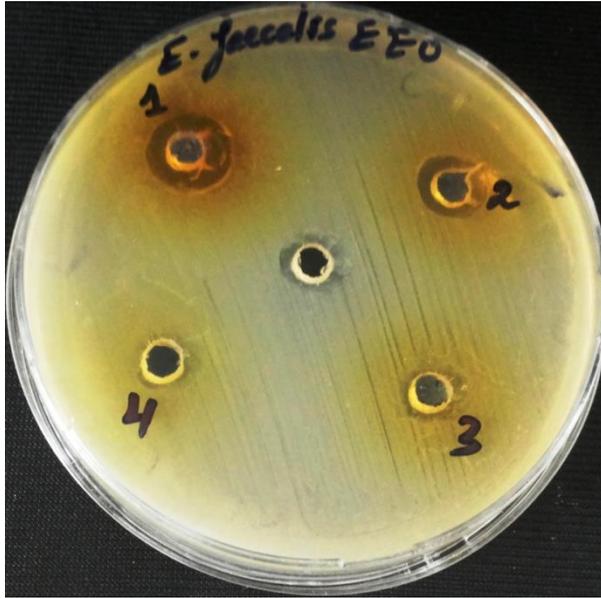
2= 250 mg/ml

3= 125 mg/ml

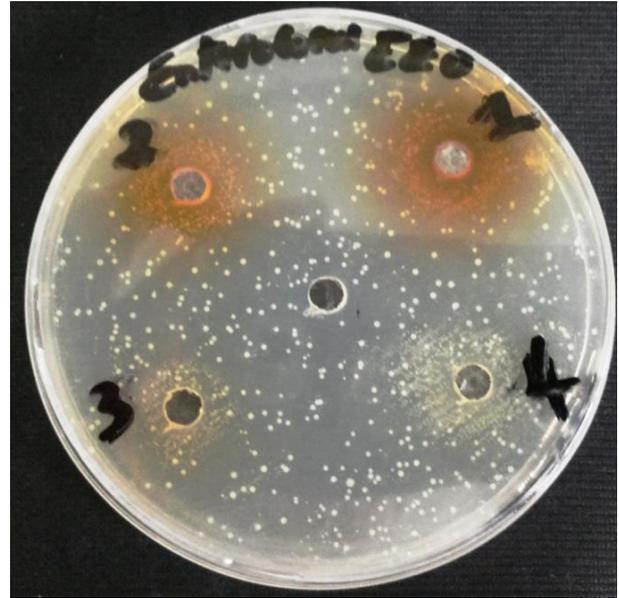
4= 62,5 mg/ml

ANNEXES

Annexe 12. Effet antibactérien de l'extrait phénolique de l'écorce d'orange sur les souches testées



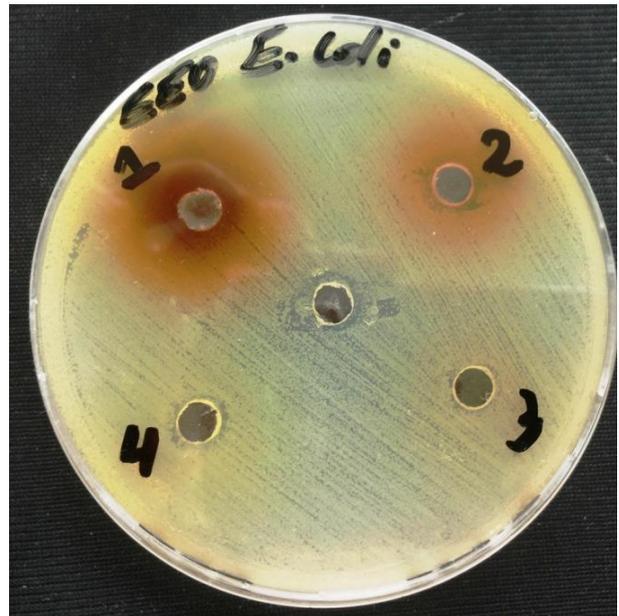
Enterococcus faecalis ATCC 19433



Enterococcus sp.



Escherichia coli ATCC 25922



Escherichia coli

1= 500mg/ml

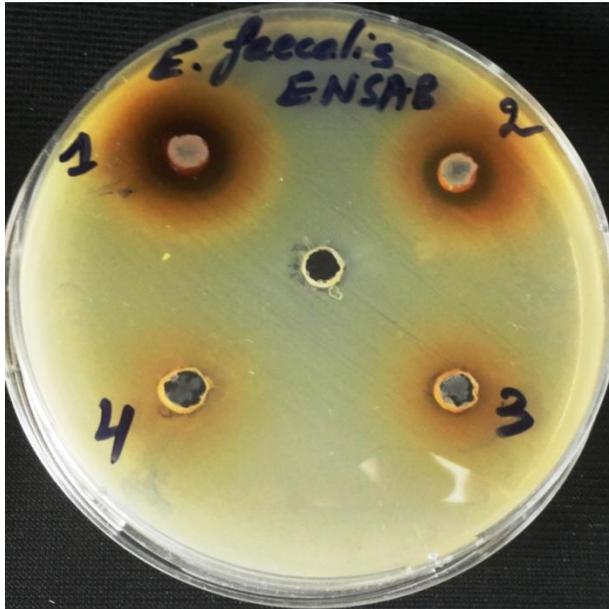
2= 250 mg/ml

3= 125 mg/ml

4= 62,5 mg/ml

ANNEXES

Annexe 13. Effet antibactérien de l'extrait phénolique de Nor-Spice AB® sur les souches testées



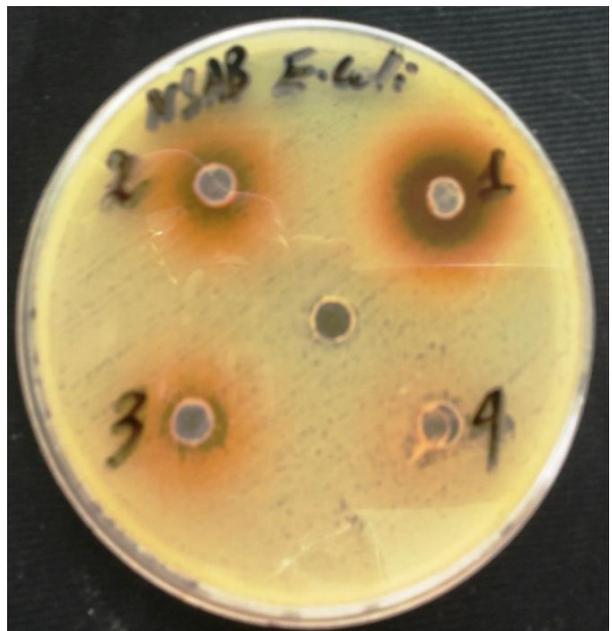
Enterococcus faecalis ATCC 19433



Enterococcus sp.



Escherichia coli ATCC 25922



Escherichia coli

1= 500mg/ml

2= 250 mg/ml

3= 125 mg/ml

4= 62,5 mg/ml

PUBLICATION



Modulation of broilers' productivity and blood biochemical parameters by *Citrus*-elements dietary supplementation

Assia Boumezrag^{1*}, Baghdad Khiati², Rachida Benaraba², Laid Boukraa², Si Mohamed Hammoudi², Pierre Chicoteau³, Mohammed El Amine Benarbia³

Abstract

The present study was conducted to evaluate the effects of a commercial lemon extract (Nor-Spice AB), dried sweet orange peel, dried lemon peel and avilamycin on broilers' live weight and carcass traits, and to investigate their effects on some blood biochemical parameters and intestinal morphometry.

A total number of 650 one day-old unsexed Arbor Acres broiler chicks were randomly assigned to 5 floor pens with 130 each and subjected to one of five different experimental diets: non supplemented basal diet (control), basal diet with 100 mg/kg of avilamycin, basal diet with 250 mg/kg of a commercial lemon extract (Nor-Spice AB), basal diet with 250 mg/kg of dried sweet orange peel and basal diet with 250 mg/kg of dried lemon peel. The commercial-based feed additive improved significantly ($P < 0.01$) the live weight and carcass yield of broilers. Plasma glucose was very significantly ($P < 0.0001$) decreased in all supplemented groups, whereas plasma cholesterol was significantly ($P < 0.05$) increased in the group fed on avilamycin. Both lemon extract and lemon peel induced a significant increase in plasma triglycerides. Only avilamycin induced a significant decrease in the intestinal length.

Keywords: *Citrus*, avilamycin, carcass yield, biochemical components

¹ Institute of Veterinary Science, Ibn-Khaldoun University of Tiaret, 14000 Tiaret, Algeria.

² Laboratory of Research on Local Animal Products, Ibn-Khaldoun University of Tiaret, 14000 Tiaret, Algeria.

³ Nor Feed SAS, 3 rue Amedeo Avogadro, 49070, Beaucouzé, France.

* Corresponding author: boumezragassia10@gmail.com

Introduction

Antibiotic growth promoters (AGP) were used for up to 50 years as feed additives in all food animals in order to promote growth, improve feed efficiency and to prevent diseases (Katsunuma et al., 2007; Vidanarachchi et al., 2010).

The great worldwide overuse of antibiotics at subtherapeutic levels in poultry industry had led to the emergence and spread of antibiotic-resistance (ABR) which is considered as a major public health problem because of the transfer of resistance bacteria to human directly through food chain or indirectly by contact with animals (Vuuren, 2001; Founou et al., 2016). Consequently, the use of AGP in poultry feed was restricted in many countries in the European Union to preserve food safety and subsequently to protect the public health from the harmful impact of these substances (Sharifi et al., 2013).

However, in developing countries such as Algeria where poultry production is intensified, antibiotics are largely used as therapeutic agents, in metaphylaxis or to prevent infectious diseases resulting from stress. Moreover, the misuse of antibiotics and/or the non-respect of withdrawal period resulted in an imbalance between beneficial and harmful intestinal flora and had led to selection and amplification of multi-drug resistant bacteria (Dibner and Richards, 2005). This emerging threat on animal

and human health led to the research of effective feed supplements alternatives to antibiotics (Vieira et al., 2008). So, many alternatives such as exogenous enzymes, organic acids, direct-fed microbial (probiotic) and prebiotics have been used as growth enhancers but a significant attention is now attributed to medicinal herbs and plant extracts as growth promoters (Huyghebaert et al., 2011). Several plant extracts were studied for their effects on growth performance in broilers. It was reported that some natural products mainly phenolic compounds (PC) may exhibit a potential antimicrobial activity and an antioxidant activity which lead to enhance the gut health and consequently increase feed efficiency (Akbarian et al., 2013).

These bioactive compounds are found in large amounts in some fruits and vegetables. Citrus fruits are rich in valuable substances such as phenolic compounds including flavonoids and carotenoids which possess antimicrobial and antioxidant properties (Akbarian et al., 2013).

Nowadays, the industrialization of food production has led to the generation of large amounts of "wastes" and residue materials that have a deleterious impact on the environment. Several approaches were applied to minimize the rate of pollution and to avoid the loss of valuable nutrients. One of these approaches is to use some of these by-products as natural feed additives in farm animals to get a food product with improved quality.

Sweet orange and lemon are very important horticulture

products in Algeria and their fruit's peels represent the major by-products of juice extraction industry. Citrus peels are considered a potential source of many nutritional components such as pectin, flavonoides (hesperedin and naringin), phenolic compounds, vitamin C and essential oils (Ebrahimi et al., 2013). Many studies have focused on the effect of orange peels as feed additives in cattle, pig and poultry feeds (Oluremi et al., 2010; Abbasi et al., 2015). However, the effects of lemon peels in poultry dietary supplementation have not been extensively explored.

In this regard, the present study was conducted to investigate and to compare the effects of a standardized commercial lemon extract based feed additive (Nor-Spice AB), non standardized crude products consisting of dried sweet orange peel and dried lemon peel and an antibiotic growth promoter on broiler chicken productivity with a particular focus on carcass traits and blood biochemistry.

Material and methods

Experimental design

The study was conducted in the Algerian Animal Research Center in Sougueur (Tiaret, Algeria) and the experimental protocol was approved by the Ethical Committee of Veterinary Institute. A total number of six hundred and fifty (650) one-day-old unsexed Arbor Acres broiler chicks with an average body weight of 49 g were obtained from a commercial hatchery and randomly assigned to five floor pens with 130 birds per pen. One manual feeder and one bell drinker were placed in each pen to provide feed and water *ad libitum* and the floor was covered with clean-shopped straw as litter material. Chicks were vaccinated against Newcastle disease (NCD) and infectious bursal disease (IBD) according to the standard vaccination program and they received an anti-stress Ascogrape (Animal Feed, Algeria) in drinking water 24 hours before and after vaccination. A lighting program of 23h light and 1-hour dark was applied during the first week followed by 20 h lighting program was for the remaining experimental feeding period. The room temperature was adjusted to 31°C on day one and was then gradually reduced to 21°C by the end of the experiment.

Dietary treatments

Broilers were reared to 42 days of age and during this period they received two phase-diets: a basic starter feed between placement and 3 weeks and a grower feed from 22 days to 42 days. Five dietary treatments containing a natural coccidiostat Norponin XO₂ (Nor-Feed Beaucozé, France) were used and they included: diet without additives (negative control), diet supplemented with 100 mg/kg of an antibiotic growth promoter avilamycin (Eli Lilly Company, Indianapolis, USA), diet supplemented with 250 mg/kg commercial citrus extract (Nor-Spice AB, Nor-Feed Beaucozé, France), diet supplemented with 250 mg/kg dried sweet orange peels and diet supplemented with 250 mg/kg dried lemon peels. The ingredients and nutritional composition of the basal diets used are shown in Table 1.

Table 1. Feed ingredients and calculated nutrient composition of the basal diets.

Item	Starter diet (d 1 to21)	Grower diet (d 22 to 42)
Feed ingredient (%)		
Corn	60,4	60
Soybean meal	30	33
Wheat bran	5	2,5
Dicalcium phosphate	1,6	2
Soybean oil	1	0,5
Sodium bicarbonate	1	1
Premix ¹	1	1
Nutrient composition		
Energy (MJ/kg)	12,14	13
Crude protein (%)	22.9	23
Crude fiber (%)	8.6	8.7
Crude fat (%)	3.4	3.2

¹Vitamin and mineral composition per kilogram of feed: vitamin A, 1000000mg; vitamin D3, 200000 mg; vitamin E, 2000mg; vitamin B1, 150mg; vitamin B2, 500mg; vitamin B12, 2mg;vitamin K3, 200mg; vitamin PP, 2500mg; pantothenic acid, 2500mg; folic acid, 100mg; biotin, 10mg; choline chloride, 35000mg; methionine, 150000mg; antioxidant, 10000mg; Fe, 6000mg; Cu, 750mg; Zn, 6000mg; Mn, 105000mg; I, 150mg; Se, 30mg; Co, 60mg.

Orange peel and Lemon peel powders were analyzed for total content of phenolic compounds and flavonoids. The total content of phenolic compounds was 100.97 and 133.66 mg equivalent gallic acid/gram of dried matter for orange peel powder and lemon peel powder, respectively. The total flavonoids contents were 22.65 and 21.49 mg quercetin/gram of orange peel powder and lemon peel powder, respectively. According to the technical data sheet of Nor-Spice AB provided by the manufacturer, the total content of phenolic compounds was 7%, the content of Narangin was 0.5% and that of Hesperedin was 2%.

Live body weight measurement

Twelve birds from each experimental treatment were wing-banded and weighted twice a week throughout the experimental period. Mortality was daily recorded and dead birds were weighted. At the end of the rearing period, twelve birds from each group were selected and weighted then the average live weight for each group was recorded.

Carcass characteristics

At the last day of the experimental period (d 42), twelve (12) birds per treatment group were randomly selected and individually weighed. After slaughter, abdominal cavity was opened and the total gastro-intestinal tract was removed then visceral organs (proventriculus, gizzard,

lungs, heart, liver, pancreas, spleen and kidney) were weighed and the carcass yield was concluded.

Blood collection and biochemical analysis

During slaughter, blood samples were collected into heparin tubes and immediately centrifuged at 2000 ground for 15 minutes at room temperature. Plasma was then harvested and stored in eppendorf tubes at -20°C for subsequent analysis. Serum concentrations of total cholesterol, triglycerides and glucose were measured by enzymatic colorimetric method using commercial kits (SPINREACT, S.A /S. A. U, SPAIN).

Gut length measurement

Total intestinal tract was removed and transferred into individual sterile containers, sealed and transported to the laboratory for total intestinal length measurement.

Statistical analysis

Data collected were subjected to the analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test for multiple comparisons using Prism Graph PAD 6 (GraphPad software, Inc, USA). All statements of significance were based on probability of less than 0.05 ($P < 0.05$).

Results

Live weight and carcass yield

The effects of experimental diets on live body weight and carcass yield are shown in Fig. 1

Among the different dietary treatments, Nor-Spice AB, orange peel and avilamycin showed an increase of broiler's live weight, which was only significant ($P < 0.01$) for Nor-Spice AB - supplemented group compared

with the negative control group. In contrast, dietary supplementation with lemon peel induced a slight but no significant decrease of live weight. Carcass yield was significantly ($P < 0.01$) improved in the group fed diet supplemented with Nor-Spice AB. Both, avilamycin and lemon peel showed a mild carcass yield decrease.

Blood biochemical parameters

The effects of dietary treatments on mean plasma concentrations of selected components including total cholesterol, triglycerides and glucose of broiler chickens at 42 days are given in Fig. 2.

The results showed that feeding avilamycin supplemented diet induced a significant increase ($P < 0.05$) of plasma cholesterol compared to the negative control group.

Triglycerides concentration increased significantly ($P < 0.05$) in Nor-Spice AB and lemon peels fed broilers compared to the negative control group. In contrast, the other experimental diets did not affect the plasma concentration of triglycerides in comparison to the control group. The mean concentration of plasma glucose was very significantly ($P < 0.0001$) reduced in all the experimental diets groups compared to the negative control group.

Intestinal length

Results related to the intestinal length are shown in Fig. 3. Only avilamycin supplemented groups group showed a significant ($P < 0.05$) decrease of intestine length when compared with the negative control group.

Internal organ weights

The effects of dietary supplementation on visceral

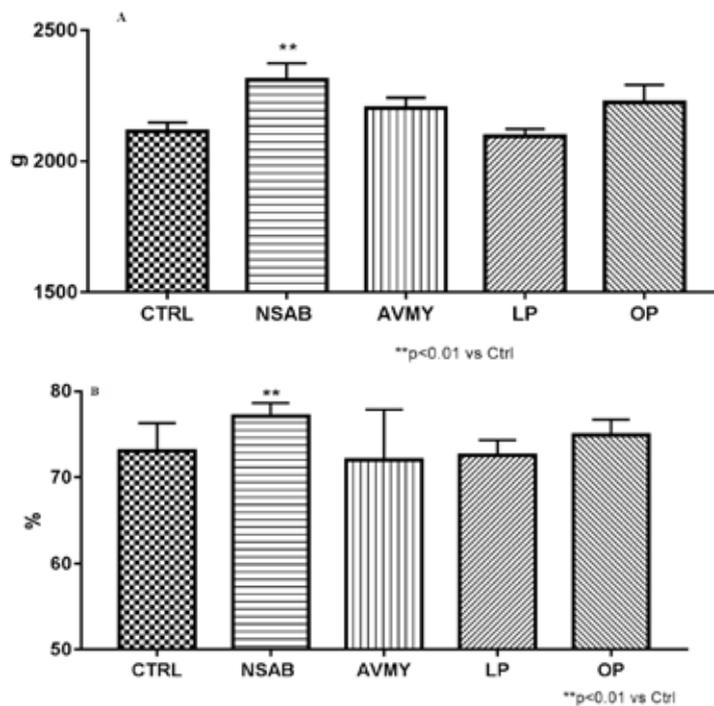


Figure 1: Effects of dietary supplementation on (A) live weight, (B) carcass yield of broiler chickens at 42 days of age. Negative controls (CTRL), Nor-Spice AB (NSAB), avilamycin (AVMY), lemon peel (LP) and orange peel (OP).

organs weights are illustrated in Fig. 4 No significant differences were observed among the groups for gizzard, pancreas and liver mean weights. However, the weight of proventriculus decreased significantly ($P < 0.05$) in the avilamycin-supplemented group compared to the negative control.

Likewise, there was a highly significant decrease ($P < 0.001$) of spleen weight in the group fed orange peel-supplemented diet compared to the negative control group. Moreover, heart weight was significantly ($P < 0.05$) decreased in all dietary treatments.

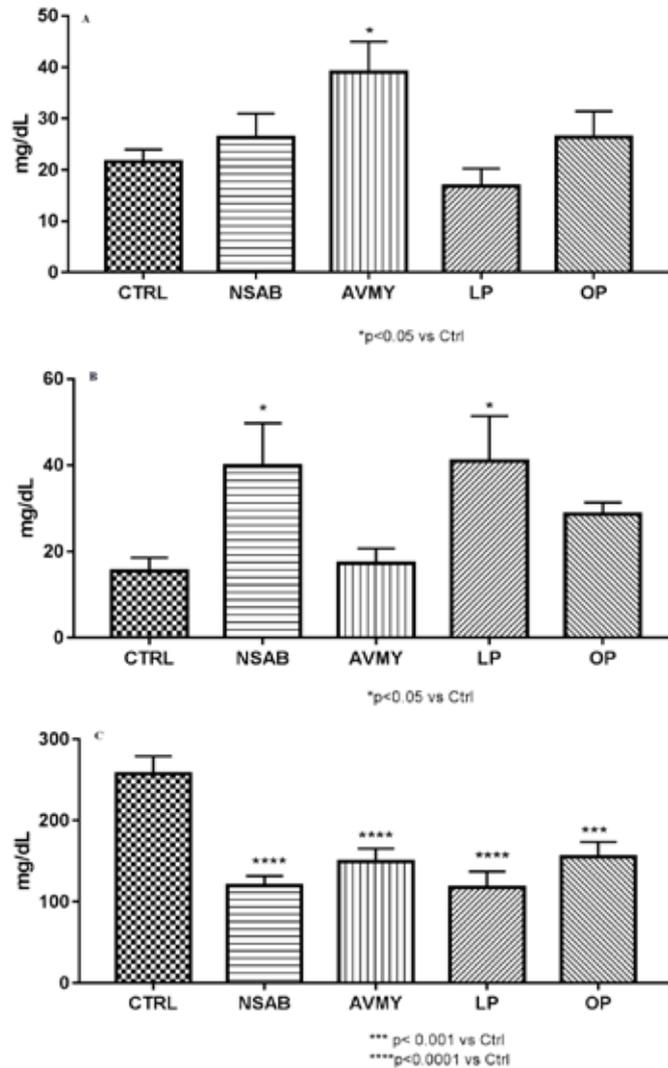


Figure 2: Effects of dietary supplementation on mean concentrations of selected plasma constituents (A) cholesterol, (B) triglycerides and (C) glucose of broiler chickens at 42 days of age. Negative control (CTRL), Nor-Spice AB (NSAB), avilamycin (AVMY), lemon peel (LP) and orange peel (OP).

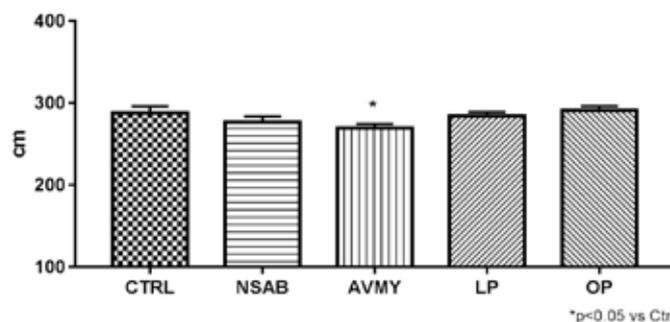


Figure 3: Effects of dietary supplementation on intestinal length of broiler chickens at 42 days of age. Negative control (CTRL), Nor-Spice AB (NSAB), avilamycin (AVMY), lemon peel (LP) and orange peel (OP).

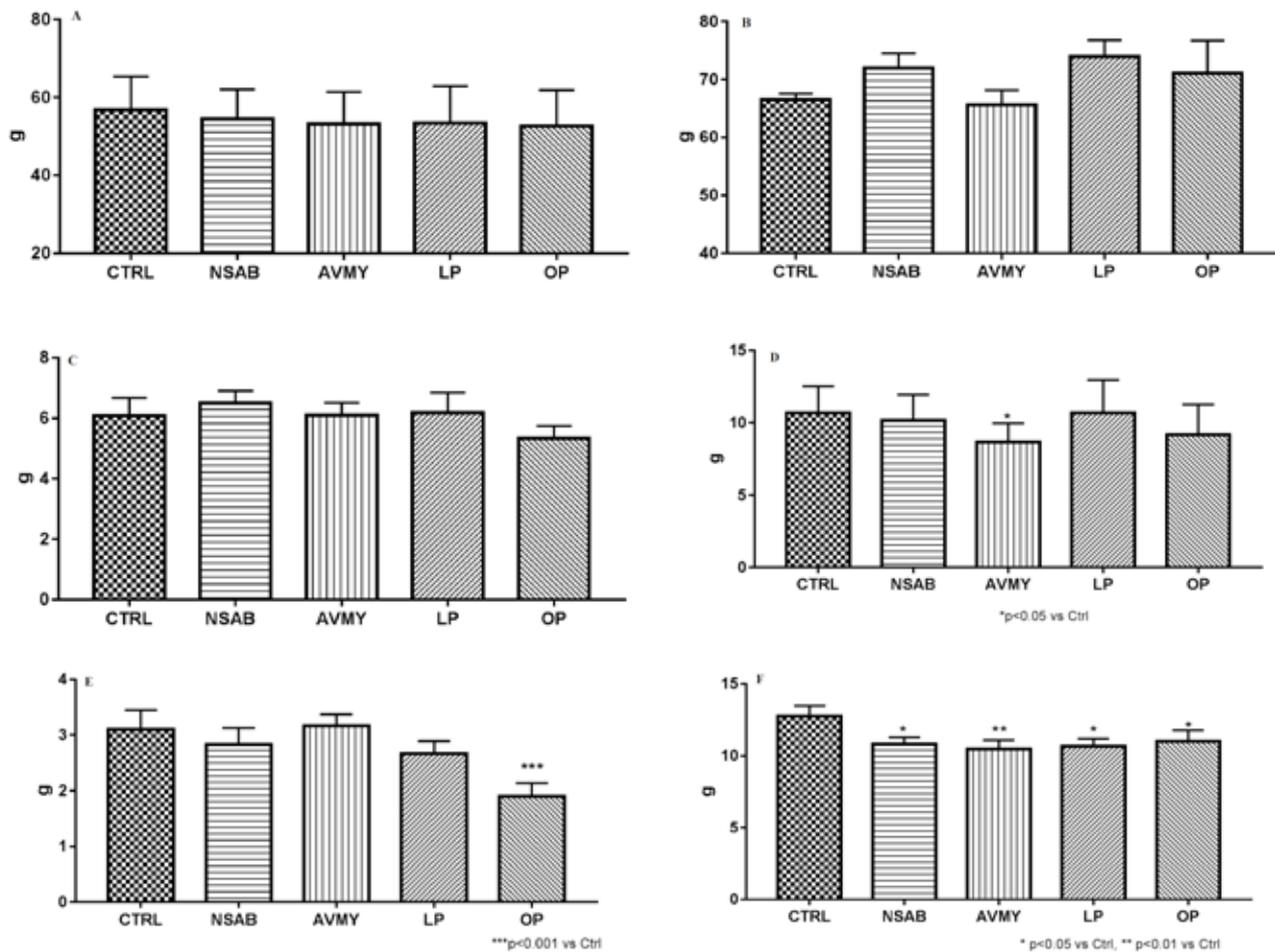


Figure 4: Effects of dietary supplementation on visceral organs weights ; (A) liver, (B) gizzard, (C) pancreas, (D) proventriculus, (E) spleen and (F) heart of broiler chickens at 42 days of age.

Negative control (CTRL), Nor-Spice AB (NSAB), avilamycin (AVMY), lemon peel (LP) and orange peel (OP).

Discussion and conclusions

Various plants, herbs and spices have been used either as crude products or as plant extracts in poultry feed in order to improve performances and productivity of chickens. However, many investigations in this field showed contradicting results.

These variable results have been attributed to several factors related to the plant including: dose of feed additive, type and concentration of the bioactive components in the pure compound or in its extracts, extraction process, collection time of the herb materials, physiological development period of herbs and seasonal changes (Kirbaşlar et al., 2009). Other factors include the composition of basal diet, management practices, and health status of birds, environmental conditions, and duration of rearing period, age, sex and breed of birds (Nunes et al., 2012). The present experiment was therefore conducted to investigate the effects of dietary supplementation with different citrus byproducts (standardized and not standardized) as alternative to antibiotic growth promoters on quality traits of broilers.

The experimental diets caused a significant variation in the final mean body weight among the groups. Broilers fed diet supplemented with a commercial standardized lemon extract (Nor-Spice AB) achieved the highest body weight and the highest carcass yield. In fact, it is well known that there is a close relationship between body weight and carcass weight as reported by Saleh (1992). The growth promoting effect of this commercial additive obtained in this study may be attributed to its antibacterial activity against pathogenic microflora, which leads to improve digestibility and nutrient absorption in the intestinal epithelium, increasing thereby the weight gain and the carcass dressing percentage.

In the present study, feeding orange peel did not affect significantly live weight and carcass yield of broilers. These results are in agreement with those of Ebrahimi et al. (2013) who reported that feeding diet supplemented with dried sweet orange peel (DSOP) had no significant effect on final body weight and carcass yield percentage of broiler chickens. Moreover, Ebrahimi et al. (2014) stated that the effect of diet supplemented with orange (*Citrus sinensis*) peel extract (CSPE) on final body weight and carcass yield of broilers was not significantly different from the control group.

In the current study, neither the live weight nor the carcass yield of broilers fed on lemon peel was improved. This result partly agreed with the finding of Nobakht (2013) who reported that inclusion of dried lemon pulp (DLP) increased live weight of broilers but it had no significant effect on carcass yield. Recently, Behboudi et al. (2016) showed that inclusion of lemon juice in drinking water had no significant effect on body weight of broilers.

Although it was expected that supplementing diet with an antibiotic growth promoter would improve the growth of broilers, the results obtained from this study showed that avilamycin did not have any significant effect on live weight or carcass yield in comparison with other dietary treatments. These results are in agreement with those of other researchers who reported dietary supplementation of avilamycin had no effect on broiler's body weight (Akbari, 2014; Riyazi et al., 2015).

In contrast to our results, Wellenreiter et al. (1999) reported that broilers fed avilamycin were heavier and had high carcass weight and dressing percentage than the control birds. Zhou et al. (2009) also reported that the body weight of birds fed avilamycin significantly increased compared to the control group. According to our results and many previous research studies, the efficacy of antibiotic growth promoters on broiler performance was inconsistent and this may be attributed to several factors including the health status of chicks, quality of basal diet, environmental conditions, management practices and dose of feed additive (Nunes et al., 2012).

Serum metabolites showed that cholesterol was significantly increased in the group fed on avilamycin compared to the negative control. Similar to our result, Sharifi et al. (2013) reported that the addition of an antibiotic growth promoter, flavomycin increased the concentration of total cholesterol. According to Guban et al. (2006), this hypercholesteremic effect may be attributed to a reduction in the growth and activity of the intestinal microflora responsible for bile salt deconjugation, reducing thereby the hepatic fat emulsification and lipid absorption and leading consequently to total cholesterol increment.

On the other hand, dietary supplementation of dried citrus (orange and lemon) peels decreased serum cholesterol level compared to antibiotic growth promoter-fed group. This result is consistent with the finding of Ebrahimi et al. (2016) and Abbasi et al. (2015). Moreover, Chaudry et al. (2004) reported that blood cholesterol significantly decreased with the incorporation of high levels of citrus peel in the ration and they attributed this lowering effect to pectin which is present according to Baker (1994) in both the edible parts of fruits as well as the inedible residue like peel. Several mechanisms have been proposed for the cholesterol lowering of pectin and one of the major mechanisms is that pectin decreased absorption of bile acids and bile salts and increased the fecal bile acids excretion which leads in turn to decrease serum cholesterol levels (Gallaher et al., 1993). Further, the hypocholesterolemic effect of citrus was attributed according to Bok et al. (1999) to the flavonoids present

in the peel which inhibit the active hepatic enzyme 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase which is responsible for cholesterol biosynthesis in liver.

Plasma triglyceride concentration in the commercial standardized lemon extract (Nor-Spice AB) and lemon peel fed groups was significantly higher than negative control group. This increase may be attributed to enhanced hepatic lipogenesis (Herzberg and Rogerson, 1988). In contrast to this finding, feeding citrus peel-supplemented diets had no significant effect on blood triglycerides of broilers (Ebrahimi et al., 2016). Moreover, adding avilamycin to broiler diet resulted in a marked increase in the concentration of the triglyceride compared to the control group (Riyazi et al., 2015).

Mean plasma glucose concentration was significantly reduced in all dietary supplemented groups in comparison with the negative control group. Similarly, plasma glucose concentration was significantly decreased in 42 days broilers fed dried sweet orange peel supplemented diet (Ebrahimi et al., 2016). Additionally, blood glucose level decreased significantly in diabetic rats fed different levels of orange peel (Elhardallou et al., 2015).

Abbasi et al. (2015) reported that the use of dried citrus pulp had no effect on glucose level. However, using dried citrus pulp at more than 16% increased significantly the serum glucose level and reduced the triglyceride concentration in laying hens (Nazok et al., 2010).

The hypoglycemic mechanism was not explored in this study and need to be addressed but according to Hazelwood and Langslow (1978), it might be due to increased insulin secretion from beta cells or decreased glucagon secretion from alpha cells in the pancreas. In another study conducted by Parmar and Kar (2007), a concomitant decrease of serum glucose was associated with an increase of insulin level in rats given aqueous extracts of *Citrus sinensis*.

A significant decrease of intestinal length was noted for the group fed avilamycin in comparison to the control group. This is in accordance with the finding of Miles et al. (2006) who reported that birds fed either virginamycin or bacitracin methylene disalicylate had shorter gastrointestinal lengths than birds given the control diet. It has been reported that antibiotic growth promoters induce thinning and shortening of gut (Modi et al., 2011; David et al., 2016). It is well known that antibiotic growth promoters modify microflora and their metabolites within the gastrointestinal lumen, which lead in turn to early gut morphological changes since microflora play an important role in morphogenesis and gut development during the first days post-hatch. These elements taken together may explain the effect of avilamycin on intestinal length.

None of the dietary treatments in the present study showed significant effect on the mean weight of gizzard, pancreas and liver corroborating thus other findings (Akbarian et al., 2013; Ebrahimi et al., 2014).

Mean heart weight was decreased in all supplemented groups compared with the control group. Contrary to our

results, heart mean weight was not influenced by citrus supplemented feed (Akbarian et al., 2013; Ebrahimi et al., 2014). We observed that avilamycin supplemented diet induced a significant decrease of proventriculus weight whereas supplementation of orange peel resulted in significant decrease of spleen weight. These results are not in agreement with those of Akbarian et al. (2013) and Orayaga et al. (2016) who observed that dietary supplementation of either citrus peel or avilamycin had no significant effect on both proventriculus and spleen weights.

In contrast, the relative weights of proventriculus and gizzard increased in a dose dependent way after feeding diet supplemented of sweet orange peel meal (Agu et al., 2010). Even though, the incorporation of orange peel powder in the broiler's feed had significantly increased liver, heart and spleen weights (Siyal et al., 2016), it had no significant effect on the same organs in another study conducted by (Alefzadeh et al., 2016).

In a recent study, a significant increase in the weight of proventriculus, gizzard, liver, spleen and heart was noticed for broilers fed on sweet orange peel meal (Ahaotu et al., 2017).

In conclusion, dietary supplementation of Citrus extract improved the live weight and carcass yield of broilers. Although, dried orange and dried lemon peels had not improve the final broiler's live weight, they did not alter the carcass quality traits and their effects were similar to those of the antibiotic growth promoter. Based on the results mentioned above, citrus supplemented diet could be an alternative to antibiotic growth promoters in poultry feeding. Data from the present study show the importance of phytochemical analysis, quality control and standardization of botanicals when these later are assigned for dietary supplementation. Further studies are required to screen the phytochemical components of citrus peels and to explore their mode of action in modulating blood biochemical parameters.

Acknowledgments

The authors express their sincere gratitude to all the staff of the Algerian Animal Research Center in Sougueur (Tiaret, Algeria) and Laboratoy of Research on Local animal Products, Ibn-Khaldoun university of Tiaret (Algeria) for providing necessary facilities for carrying out this research.

The authors are also grateful to Dr. MANSOUR Abderrahim, Mr TALEB M'HAMMED Ramdane and Mrs AIT NAAMANE Karima for their collaboration during this study.

Conflict of interest: none

References

1. Abbasi, H., Seidavi, A., Liu, W., Asadpour, A., 2015. Investigation on the effect of different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) pulp on performance, carcass characteristics and physiological and biochemical parameters in broiler chicken. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 139-146.
2. Agu, P., Oluremi, O., Tuleun, C., 2010. Nutritional evaluation of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit peel as feed resource in broiler production. *Int. J. Poult. Sci.* 9, 684-688.
3. Ahaotu, E., Ekenyem, B., Aggrey, E., 2017. Sustainability of sweet orange (*Citrus sinensis*) peel meal on the performance of finisher Broilers. *J. Agric. Sci. Pract.* 2, 27-32.
4. Akbari, MR., 2014. Effects of Dietary Inclusion of Turmeric (*Curcuma longa*) and Cinnamon (*Cinnamomum verum*) Powders on Performance, Organs Relative Weight and Some Immune System Parameters in Broiler Chickens. *Poult. Sci.* 2, 153-163.
5. Akbarian, A., Golian, A., Gilani, A., Kermanshahi, H., Zhaleh, S., Akhavan, A., De Smet, S., Michiels, J., 2013. Effect of feeding citrus peel extracts on growth performance, serum components, and intestinal morphology of broilers exposed to high ambient temperature during the finisher phase. *Liv. Sci.* 157, 490-497.
6. Baker, RA., 1994. Potential dietary benefits of citrus pectin and fiber. *Food. Technol.* 48, 133-139.
7. Behboudi, H., Esmailipour, O., Mirmahmoudi, R., Mazhari, M., 2016. The Influence of Drinking Water Containing Lemon Juice and Thyme Supplemented Diet on Performance and some Blood Parameters of Broilers under Heat Stress. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 6, 169-174.
8. Bok, S. H., Lee, S.H., Park, Y.B., Bae, K.H., Son, K.H., Jeong, T.S., Choi, M.S., 1999. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J. Nutr.* 129, 1182-1185.
9. Chaudry, M., Badshah, A., Bibi, N., Zeb, A., Ahmed, T., Ali, S., Meulen, U., 2004. *Citrus* waste utilization in poultry rations. *Arch. Geflügelk.* 68 (5), 206 - 210.
10. David, L., Vidanarachchi, J., Samarasinghe, K., 2012. Effects of Moringa Leaf and Fruit Powders and a Commercial Herbal Preparation on the Organ Size, Ileal Digestibility and Intestinal Microflora of Broiler Chickens. *Trop. Agric. Res.* 24, 12-20.
11. Dibner, J., Richards, J., 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult. Sci.* 84, 634-643.
12. Ebrahimi, A., Qotbi, A.A. A., Seidavi, A., Laudadio, V., Tufarelli, V., 2013. Effect of different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) peel on broiler chickens growth performance. *Arch. Tierzucht.* 2, 11-17.
13. Ebrahimi, A., Qotbi, AAA., Seidavi, A., Bahar, B., 2014. The effects of dietary supplementation of *Citrus sinensis* peel extract on production and quality parameters of broiler chicken. *J. Appl. Anim. Res.* 42, 445-450.
14. Ebrahimi, A., Qotbi, A., Seidavi, A., Edens, FW., Laudadio, V., Tufarelli, V., 2016. Selected plasma constituents of broiler chickens fed different levels of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) peels. *J. Anim. Plant. Sci.* 26, 949-955.

15. Elhardallou, S.B., Babiker, W.A., Sulieman, A.M.E., Goubouri, A.A., 2015. Effect of Diet Supplementation with Food Industry By-Products on Diabetic Rats. *Food. Nutr. Sci.* 6, 875.
16. Founou, L.L., Founou, R.C., Essack, S.Y., 2016. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. *Front. Microbiol.* 7, 1881.
17. Gallaher, D.D., Hassel, C.A., Lee, K.J., Gallaher, C.M., 1993. Viscosity and fermentability as attributes of dietary fiber responsible for the hypocholesterolemic effect in hamsters. *J. Nutr.* 123, 244-252.
18. Guban, J., Korver, D., Allison, G., Tannok, G., 2006. Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of *Lactobacillus salivarius*, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. *Poult. Sci.* 85, 2186-2194.
19. Hazelwood, R., Langslow, D., 1978. Intrapancreatic regulation of hormone secretion in the domestic fowl, *Gallus domesticus*. *J. Endocrinol.* 76, 449-459.
20. Herzberg, G.R., Rogerson, M., 1988. Hepatic fatty acid synthesis and triglyceride secretion in rats fed fructose-or glucose-based diets containing corn oil, tallow or marine oil. *J. Nutr.* 118, 1061-1067.
21. Huyghebaert, G., Ducatelle, R., Van Immerseel, F., 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet. J.* 187, 182-188.
22. Katsunuma, Y., Hanazumi, M., Fujisaki, H., Minato, H., Hashimoto, Y., Yonemochi, C., 2007. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* and enterococci in the feces of livestock and livestock farmers in Japan. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 53, 273-279.
23. Kirbaşlar, F.G., Tavman, A., Dülger, B., Türker, G., 2009. Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. *Pak. J. Bot.* 41, 3207-3212.
24. Miles, R., Butcher, G., Henry, P., Littell, R., 2006. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters and quantitative morphology. *Poult. Sci.* 85, 476- 485.
25. Modi, C., Mody, S., Patel, H., Dudhatra, G., Kumar, A., Sheikh, T., 2011. Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. *J. Appl. Pharm. Sci.* 01 (08), 33-36.
26. Nazok, A., Rezaei, M., Sayyazadeh, H., 2010. Effect of different levels of dried citrus pulp on performance, egg quality, and blood parameters of laying hens in early phase of production. *Trop. Anim. Health. Pro.* 42, 737-742.
27. Nobakht, A., 2013. Effects of Different Levels of Dried Lemon (*Citrus aurantifolia*) Pulp on Performance, Carcass Traits, Blood Biochemical and Immunity Parameters of Broilers. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 3(1), 145-151.
28. Nunes, R.V., Scherer, C., Pozza, P.C., Eyng. C., Bruno, L.D., Vieites FM., 2012. Use of probiotics to replace antibiotics for broilers. *Rev. Bras. Zootec.* 41, 2219-2224.
29. Oluremi, O., Okafor, F., Adenkola, A., Orayaga, K., 2010. Effect of fermentation of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit peel on its phytonutrients and the performance of broiler starter. *Int. J. Poult. Sci.* 9, 546-549.
30. Orayaga, K., Oluremi, O., Adenkola, A., 2016. Effect of water soaking of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit peels on haematology, carcass yield and internal organs of finisher broiler chickens. *J. Anim. Health. Prod.* 4, 65-71.
31. Parmar, HS., Kar, A., 2007. Antidiabetic potential of *Citrus sinensis* and *Punica granatum* peel extracts in alloxan treated male mice. *Biofactors.* 31, 17-24.
32. Riyazi, S.R., Ebrahimnezhad, Y., Hosseini, S.A., Meimandipour, A., Ghorbani, A., 2015. The effects of the avilamycin, Protexin® and basil essential oil supplements on ileal bacteria of broiler chickens. *Vet. Sci. Dev.* 5, 5819.
33. Saleh, G., 1992. Comparative studies on the performance of some broiler hybrids under certain feeding system: PhD Thesis, Animal Production Department, Minia University, Egypt.
34. Sharifi, S.D., Khorsandi, S.H., Khadem A.A., et al., 2013. The effect of four medicinal plants on the performance, blood biochemical traits and ileal microflora of broiler chicks. *Vet. arhiv.* 83, 69-80.
35. Siyal, F., Wagan, R., Bhutto, Z., Tareen, M., Arain, M., Saeed, M., Brohi, S., Soomro, R., 2016. Effect of orange and banana peels on the growth performance of broilers. *Adv Anim. Vet. Sci.* 4, 376-380.
36. Vidanarachchi, J., Elangovan, A., Mikkelsen, L., Choct, M., Iji, P., 2010. Effect of some plant extracts on growth performance, intestinal morphology, microflora composition and activity in broiler chickens. *Anim. Produc. Sci.* 50, 880-889.
37. Vieira, S.L., Oyarzabal, O., Freitas, D., Berres, J., Pena, J., Torees, C., Coneglian, J., 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with sanguinarine-like alkaloids and organic acids. *J. Appl. Poultry. Res.* 17, 128-133.
38. Vuuren, M., 2001. Antibiotic resistance, with special reference to poultry production. *Conf OIE*, pp. 135-146.
39. Wellenreiter, R.H., Mowrey, D.H., Stobbs, LA., Assonville, J.A., 1999. Effects of avilamycin on performance of broiler chickens. *Vet. therapist.* 1, 118-124.
40. Zhou, T., Chen, Y., Yoo, J., Huang, Y., Lee, J., Jang, H., Shin, S., Kim, H., Cho, J., Kim, I., 2009. Effects of chitooligosaccharide supplementation on performance, blood characteristics, relative organ weight, and meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.* 88, 593-600.

Sažetak:

Modulacija produktivnosti i biohemijskih parametara kod brojlera uzgojenih sa citrusnim dodacima prehrani

Cilj studije je procijeniti učinke komercijalnog ekstrakta limuna (Nor-Spice AB), suhe kore slatke narandže, suhe kore limuna i avilamicinana težinu brojlera i karakteristike trupova, kao i na pojedine biohemijske parametre i morfometriju crijeva.

Ukupno 650 jedinki brojlera tipa Arbor Acres starih jedandan, čiji spol nije određivan, su randomizirane u 5 grupa sa po 130 jedinki, a svaka grupa je imala svoj tip eksperimentalne prehrane: osnovna prehrana bez suplemenata (kontrolnagrupa), osnovna prehrana uz 100 mg/kg avilamycina, osnovna prehrana uz 250 mg/kg komercijalnog ekstrakta limuna (Nor-Spice AB), osnovna prehrana uz 250 mg/kg suhe kore slatke narandže i osnovna prehrana uz 250 mg/kg suhe kore limuna. Komercijalni dodatak prehrani je sa statističkom signifikantnošću ($P<0.01$) povećao težinu živih brojlera i trupova. U svim grupama brojlera koje su primale dodatke prehrani, postojala je statistički značajna razlika u koncentraciji glukoze koja je bila snižena ($P<0,0001$), dok je holesterol bio povećan ($P<0,05$) kod grupe čijoj je prehrani dodan avilamicin. Ekstrakt limuna i kora od limuna su izazvali signifikantno povećanje triglicerida u plazmi. Samo je avilamicin uzrokovao signifikantno smanjenje dužine crijeva.

RESUME



ملخص

استهدفت هذه الدراسة تأثير بعض الإضافات الغذائية (مركب حمضيات تجاري، طحين قشور البرتقال الحلو، طحين قشور الليمون ومحفز النمو أفيلاميسين) على الوزن الحي، خصائص الذابحة، بعض المعايير البيوكيميائية بالإضافة الى دراسة تأثيرها على طول الأمعاء وبكتريا الجهاز الهضمي للدجاج اللحم.

تم إجراء هذه الدراسة في مزرعة تجارب خصبة بالسوقر على 650 كتكوتا من سلالة اربيراكوز عمر يوم غير مجنس. تم تقسيم الكتاكيت إلى 5 أفواج متساوية العدد (130 كتكوتا في كل فوج) وتمت تغذية كل فوج بأحد الأعلاف التالية: علف بدون إضافة، علف يحتوي على 100مغ/كغ من Avilamycine، علف يحتوي على 250 مع/كغ من Nor-Spice AB®، علف يحتوي على 250مع/كغ من طحين قشور الليمون.

أظهرت نتائج الدراسة زيادة معنوية ($P<0.01$) في الوزن الحي ومردود الذبائح لدى فوج Nor-Spice AB®. بينت نتائج الفحص البيوكيميائي انخفاض جد معنوي ($P<0.0001$) في نسبة السكر في الدم عند كل الأفواج التي حصلت على إضافات غذائية. بينما تسبب محفز النمو في زيادة معنوية ($P<0.05$) في نسبة الكوليسترول في الدم، كان انخفاض معدل الدهون الثلاثية أكثر معنويا لدى الأفواج التي تغذت على الأعلاف التي تحتوي على طحين قشور الليمون ومركز الحمضيات التجاري Nor-Spice AB®. كما تم تسجيل انخفاض جد معنوي ($P<0.001$) في طول الأمعاء لدى الفوج الذي تغذى على محفز النمو Avilamycine.

أظهرت نتائج الفحص البيكتريولوجي انخفاض معنوي في بكتريا الإشريكية القولونية وبكتريا حامض اللاكتيك في المعى الأعور في اليوم 21 من فترة البداية، في حين تسببت إضافة Avilamycine و Nor-Spice AB® إلى العلائق في انخفاض معنوي في عدد الإشريكية القولونية في اليوم 42، ولم يسجل أي فرق معنوي في بكتريا حامض اللاكتيك في نفس الفترة.

لوحظ إضافة إلى هذا انخفاض جد معنوي ($P<0.0001$) في بكتريا *Enterococcus* عند الأفواج التي تغذت على إضافة طحين قشور الليمون وطحين قشور البرتقال ومركز Nor-Spice AB® في اليوم 21 من التجربة، أما في اليوم 42 فقد تسببت إضافة طحين قشور البرتقال إلى ارتفاع معنوي في بكتريا *Enterococcus* بينما أدت إضافة طحين قشور الليمون ومحفز النمو إلى انخفاض جد معنوي لهذه البكتريا في محتوى المعى الأعور.

الكلمات المفتاحية: حمضيات، منشط النمو، الوزن الحي، المعايير البيوكيميائية، بكتريا المعى الأعور.

Résumé

La présente étude a été réalisée pour évaluer les effets d'un concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®), les écorces d'orange douce, les écorces de citron et un antibiotique promoteur de croissance (avilamycine) sur le poids vif, les caractéristiques de carcasses, certains paramètres sanguins biochimiques ainsi pour étudier l'effet de ces additifs sur la morphométrie intestinale et la microflore digestive du poulet de chair.

Six cent cinquante (650) poussins d'un jour de souche Arbore-Acres, de sexe mélangé ont été pesés puis répartis en 5 groupes expérimentaux (130 poussins/groupe) soumis chacun à l'un des cinq régimes alimentaires suivants : aliment de base non supplémenté (groupe Témoin), aliment de base supplémenté de 100 ppm de l'antibiotique avilamycine, un aliment de base supplémenté de 250 ppm d'un extrait de citrus commercialisé (Nor-Spice AB®), un aliment de base supplémenté de 250 ppm de poudre d'écorce d'orange douce et un aliment de base supplémenté de 250 ppm de poudre d'écorce du citron.

Le concentré d'agrumes (Nor-Spice AB®) a améliorée de façon significative ($P < 0.01$) le poids vif et le rendement carcasse de poulets. Une diminution hautement significative ($P < 0.0001$) de la concentration plasmatique du glucose a été observée chez tous les groupes recevant un aliment supplémenté tandis que le taux du cholestérol plasmatique a augmenté significativement ($P < 0.05$) chez les sujets recevant l'avilamycine. L'extrait de citrus (Nor-Spice AB®) et l'écorce de citron ont entraîné une augmentation significative la concentration plasmatique des triglycérides. Une diminution très significative ($P < 0.001$) de la longueur intestinale a été observée uniquement chez le groupe recevant l'additif antibiotique (avimamycine).

De plus, Nor-Spice AB® a entraîné une diminution significative des populations bactériennes d'*Escherichia coli* et de *Lactobacillus* sp dans le contenu cæcal à J21. Même si une diminution significative du nombre d'*Escherichia coli* a été observée chez les groupes soumis aux rations contenant Nor-Spice AB® et l'avilamycine, aucune variation significative n'a été notée dans le nombre de *Lactobacillus* sp entre les groupes à J42.

En outre, une diminution hautement significative ($P < 0.0001$) des entérocoques était observée chez tous les groupes recevant des additifs à base d'agrumes (Nor-spice AB®, écorce d'orange and écorce de citron) à J 21. Contrairement à l'écorce d'orange qui entraîné une augmentation significative de la population des entérocoques dans le caecum, l'avilamycine et l'écorce de citron ont réduit d'une manière hautement significative ($P < 0.0001$) le nombre de cette population à J42.

Mots-clés: Citrus; Avilamycine; poids vif, paramètres biochimiques; microflore cæcale.

Abstract

The present study was conducted to evaluate the effects of a commercial lemon extract (Nor-Spice AB®), dried sweet orange peel, dried lemon peel and avilamycin on broiler's live weight and carcass traits and to investigate their effects on some blood biochemical parameters, intestinal morphometry and gut microflora.

A total number of 650 one day-old unsexed Arbor Acres broiler chicks were randomly assigned to 5 floor pens with 130 each and subjected to one of five different experimental diets: non supplemented basal diet (control), basal diet with 100 ppm of avilamycin, basal diet with 250 ppm of a commercial lemon extract (Nor-Spice AB®), basal diet with 250 ppm of dried sweet orange peel and basal diet with 250 ppm of dried lemon peel.

The commercial based feed additive improved significantly ($P < 0.01$) the live weight and carcass yield of broilers. Plasma glucose was very significantly ($P < 0.0001$) decreased in all supplemented groups whereas plasma cholesterol was significantly ($P < 0.05$) increased in the group fed avilamycin. Both lemon extract and lemon peel induced a significant increase in plasma triglycerides. A very significant decrease ($P < 0.001$) of the intestinal length was observed only in the group fed avimalycin.

Additionally, Nor-Spice AB® decreased significantly caecal populations of both *Escherichia coli* and *Lactobacillus* sp on day 21. Even though, a significant decrease of *Escherichia coli* count was reported on day 42 in the groups fed Nor-Spice AB® and avilamycin supplemented diets, no significant effect was recorded for *Lactobacillus* sp count among the groups. Moreover, a highly significant decrease ($P < 0.0001$) of *Enterococcus* sp count was observed in all *Citrus* supplemented groups (Nor-spice AB®, orange peel and lemon peel) on day 21. On the other hand, while orange peel dietary supplementation induced a very significant increase of the enterococci population in the caecum, both avilamycin and lemon peel induced a high significant decrease ($P < 0.0001$) of the same bacterial population on day 42.

Keywords: *Citrus*; Avilamycin; live weight; Biochemical components; Caecal microflora.