

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BOUABDELLAH Djouher Khadidja

BOUAZA Amina

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : ANALYSE BIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE

THÈME

L'effet antibactérien et anticoccidien de *l'Arthrospira plantensis* (spiruline) sur la flore digestive du poulet de chair

(Étude in vitro)

Soutenu publiquement le 16/06/2016

DEVANT LE JURY

Président	M. NEBBECHE Salim	M.C.B U. Mostaganem
Examineur	M. BARKA Mohamed	M.C U. Mostaganem
Encadreur	Mme. DAHMOUNI Zineb	M.A.A U. Mostaganem
Co-Encadreur	M. DAHMOUNI Said	M.A.A U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire régional vétérinaire de Hassi Mamache, laboratoire de Ain Tedles et les laboratoires de l'université de Mostaganem

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions ALLAH, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour faire ce travail.

Nous remercions notre encadreur maître-assistant à l'université de Mostaganem **Mme DAHMOUNI Z** pour ses conseils et ses orientations précieuses pour finaliser ce travail et qui nous ont permis de mener à bien l'ensemble de notre recherche.

Nous remercions également **M. DAHMOUNI Said** Co-encadreur, maître-assistant A à l'université de Mostaganem d'avoir été toujours là pour nous.

Nous adressons nos sincères remerciements à **M. NEBBECHE Salim** maître conférence à l'université de Mostaganem et **M. BARKA Mohamed** Docteur vétérinaire d'avoir accepté de faire partie de notre jury.

Nous tenons à remercier aussi le directeur du laboratoire régional vétérinaire **Mr KEBIR** d'avoir accepté de notre demande de stage, le service bactériologie et les autres services du laboratoire **M. BELHADJ Reda** pour ces conseils précieux au cours de tout le travail ainsi que **M. BARKA Mohamed, M. ABED et M. REZIGUA Charef**.

Nous tenons aussi à adresser nos vifs remerciements aux techniciens de laboratoire de l'université de Mostaganem : **Mme AMIR F, Mme Djemia, Mme Nouria et M BENBOUZIANE DJ**.

Nous remercions nos collègues et nos amies et tous ce qui nous ont aidés pendant notre travail

Liste des abréviations

FAO	: Food Association Organisation
EDTA	: Ethyène Diamine Tetra
Sp-Ca	: spirulane calcium
Sp-Na	: spirulane sodique
sp	: sous espèce
AW	: activité water
°C	: degré Celsius
pH	: potentiel d'hydrogène
%	: pourcentage
µm	: micro mètre
KDa	: kilo dalton
OMS	: Organisation Mondiale de Santé
g	: gramme
cm	: centimètre
mm	: millimètre
UV-Visible	: Ultra-Violet-Visible
HBSS	: Hank's Balanced Solution without sodium bicarbonate and phenol red
UI	: Unité Internationale
mg	: milligramme
V	: volume
h	: heure
SFB	: Bouillon Sélénite Cystéine
TSI	: Triple Sugar Iron
B.H.I.B	: Bouillon Coeur-Cerveau
MH	: Muller Hinton
PBS	: Phosphate Buffer Saline
MFI	: matière Fécale Intestinale
MFC	: Matière fécale Caecale
µl	: microlitre
nm	: nanomètre

LISTE DES ABREVIATIONS

min	: minute
ONPG	: Ortho-Nitro-Phényl Galactopyranoside
ADH	: Arginine Dehydrolase
LCD	: Lysine décarboxylase
ODC	: Ornithine décarboxylase
CIT	: citrate
H ₂ S	: Thiosulfate de Sodium
URE	: Urée-Tryptophane
TDA	: Tryptophane désaminase
IND	: indole
VP	: Voque Proskauer
GEL	: Gélatinase
GLU	: D-Glucose
MAN	: D-Mannitol
INO	: Inositol
SOR	: D-Sorbitol
RHA	: L-Rhamnose
SAC	: D-Sucrose
MEL	: D-Mélibiose
AMY	: Amygdalin
ARA	: L-Arabinose
OX	: Oxydase
EBe	: Extrait brut éthanolique
EBm	: Extrait brut méthanolique
EBa	: Extrait brut acétonique
E	: Ethanol
M	: Méthanol
A	: Acétone
CH	: Chloroforme
R	: Résistante

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Forme végétative d' <i>Arthrospira plantensis</i>	5
Figure 2	Différentes formes prises par la spiruline	7
Figure 3	Cycle biologique de la spiruline	8
Figure 4	les valeurs nutritives présentes dans 10 g de spiruline	26
Figure 5	Appareil digestif du poulet	37
Figure 6	Observation microscopiques d' <i>E. Coli</i> (× 15 000) à microscope électronique à balayage	41
Figure 7	Observation microscopique de <i>Salmonelle</i> (× 20000) à microscope électronique à balayage	45
Figure 8	Observation microscopique de <i>Listeria monocytogenes</i> à microscope électronique à balayage (× 20000)	47
Figure 9	Observation microscopique de <i>S.aureus</i> à microscope électronique à balayage (× 20000)	48
Figure 10	Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> à microscope électronique à balayage (× 20000)	50
Figure 11	Oocystes non sporulés observés sous microscope optique (x40)	55
Figure 12	Représentation d'un oocyste sporulé	55
Figure 13	Schéma général du cycle évolutif de l'espèce <i>Eimeria</i>	56
Figure 14	Lésions nécrotiques et hémorragiques dans la coccidiose caecale	61
Figure 15	Lésions caractéristiques de la coccidiose intestinale engendrées par <i>A. Eimeria acervulina</i> ; <i>B. E. maxima</i> ; <i>C. E. necatrix</i> ; <i>D. E. Brunetti</i>	64
Figure 16	Broyage de la spiruline	68
Figure 17	Méthode d'extraction des huiles par Folch	69
Figure 18	Extraction des extraits bruts par macération	70
Figure 19	Extraction de la spiruline par macération par trois solvants	71
Figure 20	Isolement des bactéries à partir de l'intestin	72
Figure 21	Standard de Mc Farland	74
Figure 22	Echantillon Caecal	78
Figure 23	Echantillon intestinal	78
Figure 24	Raclage des caecums, des intestins et récupération des échantillons (Matière fécale)	78
Figure 25	Isolement d' <i>E. Coli</i> sur milieu Hecktoen	81
Figure 26	Isolement de <i>Proteus</i> et <i>Enterobacter</i> sur milieu Hecktoen	81

LISTE DES FIGURES

Figure 27	Isolement des Salmonelles sur milieu Hektoen	82
Figure 28	Test TSI positif pour E coli	82
Figure 29	Test TSI positif pour salmonelle	82
Figure 30	Résultat d'Api 20 ^E pour <i>E. coli</i>	83
Figure 31	Galerie classique pour <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Enterobacter sp</i>	83
Figure 32	Résultat d'Api 20 ^E pour <i>S.typhi</i> et <i>S.gallinarum</i>	84
Figure 33	Isolement de <i>S.aureus</i> sur milieu Chapman	85
Figure 34	Résultat d'Api pour <i>S.aureus</i>	85
Figure 35	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité bactérienne d' <i>Escherichia coli</i> .	87
Figure 36	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne d' <i>Enterobacter sp</i> .	88
Figure 37	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de <i>Salmonella enteritidis</i> .	89
Figure 38	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de <i>Salmonella gallinarum</i> .	90
Figure 39	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de <i>Salmonella typhi</i> .	91
Figure 40	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de <i>Salmonella typhimurium</i> .	92
Figure 41	l'effet des extraits de l' <i>Arthrospira plantensis</i> et des antibiotiques sur les entérobactéries exprimées en diamètre des zones d'inhibition en mm	95
Figure 42	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de <i>Proteus mirabilis</i>	96
Figure 43	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	97
Figure 44	l'effet des extraits de l' <i>Arthrospira plantensis</i> et des antibiotiques sur <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> exprimées en diamètre des zones d'inhibition en mm	199
Figure 45	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants	100

LISTE DES FIGURES

	(C) sur l'activité microbienne de <i>Listeria monocytogène</i> .	
Figure 46	l'effet des extraits de <i>Arthrospira plantensis</i> et des antibiotiques sur <i>Listeria monocytogenes</i> exprimée en diamètre des zones d'inhibition en mm	101
Figure 47	l'effet des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> (A) et des antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de <i>Staphylococcus aureus</i>	102
Figure 48	l'effet des extraits de <i>Arthrospira plantensis</i> et des antibiotiques sur <i>Staphylococcus aureus</i> exprimée en diamètre des zones d'inhibition en mm.	103
Figure 49	Dénombrement des oocystes par la cellule Mc Master sous microscope optique (grossissement x40).	104
Figure 50	Effets des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> et des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes dans la matière fécale caecale (<i>Eimeria sp</i>).	106
Figure 51	Effets des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> et des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes dans la matière fécale intestinale (<i>Eimeria sp</i>)	108
Figure 52	l'absorbance des matériaux cellulaires libéré par les oocystes (<i>Eimeria sp</i>) dans la matière fécale caecale.	111
Figure 53	Effets des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> et des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes dans la matière fécale caecale (<i>Eimeria sp</i>).	111
Figure 54	l'absorbance des matériaux cellulaires libéré par les oocystes (<i>Eimeria sp</i>) dans la matière fécale intestinale.	113
Figure 55	Effets des extraits d' <i>Arthrospira plantensis</i> et des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes (<i>Eimeria sp</i>) dans la matière fécale intestinale.	113

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	les diverses appellations de la spiruline	6
Tableau 2	Composition de la spiruline	10
Tableau 3	Pourcentage moyen des acides aminés de <i>Spirulina plantensis</i>	14
Tableau 4	Composition typique en pourcentage des principaux acides gras de 3 espèces de Spiruline d'après.	16
Tableau 5	Teneur en acides nucléiques de quelques aliments	18
Tableau 6	Teneur en vitamines en $\mu\text{g/g}$ de matière sèche de Spiruline	20
Tableau 7	analyse typique des minéraux dans la spiruline (mg/kg)	25
Tableau 8	Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de <i>Spirulina plantensis</i>	26
Tableau 9	Le poids des extraits bruts final.	71
Tableau 10	Constituants de la solution HBSS.	76
Tableau 11	Composition chimique de la solution tampon PBS.	77
Tableau 12	Résultat de la culture d' <i>E. Coli</i> et <i>Salmonelle</i> sur gélose TSI	83
Tableau 13	Les résultats des micros-réactions biochimiques d'Api 20 ^E .	84
Tableau 14	Résultats des micros-réactions biochimique d'Api Staphe.	86
Tableau 15	Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour les entérobactéries.	93
Tableau 16	Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	98
Tableau 17	Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour <i>Listeria monocytogène</i> .	101
Tableau 18	Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour <i>S.aureus</i> .	103
Tableau 19	Nombre des oocystes obtenus à partir de la microplaque dans les deux prélèvements caecale et intestinale.	105
Tableau 20	nombre d'oocystes trouvant dans la matière fécale caecale et intestinale avec chaque extrait et leurs différent absorbance.	111

Sommaire

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : La spiruline

1. La spiruline.....	3
1.1. Description historique	3
1.2. Taxonomie.....	5
1.3. Répartition géographique	7
1.4. Cycle biologique.....	8
1.5. Morphologie et caractères généraux :.....	9
1.6. Caractéristiques physicochimiques de la spiruline.....	11
1.6.1. Propriétés physiques	11
1.6.2. Propriétés chimiques.....	11
1.7. Les valeurs nutritives de la spiruline	12
1.7.1. Les protéines	12
1.7.2. Les lipides	14
1.7.2.1. Lipides totaux	14
1.7.2.2. Acides gras.....	15
1.7.3. Les glucides	17
1.7.4. Les acides nucléiques.....	18
1.7.5. Les vitamines	19
1.7.5.1. Provitamine A (β -carotène).....	19
1.7.5.2. Vitamine E (tocophérols).....	20
1.7.5.3. Vitamines hydrosolubles.....	20
1.7.5.4. Vitamine B2.....	20
1.7.5.5. Vitamine B12.....	21
1.7.6. Biotéine.....	21
1.7.7. Les minéraux et oligo-élément	22
1.7.7.1. Fer	22
1.7.7.2. Zinc	22
1.7.7.3. Magnésium.....	23

Sommaire

1.7.7.4. Sélénium	23
1.7.7.5. Iode	23
1.7.7.6. Autres minéraux.....	24
1.7.8. Les pigments	25
1.7.8.1. La phycocyanine	25
1.7.8.2. La chlorophylle	25
1.7.8.3. Les caroténoïdes	26
1.7.9. Propriétés thérapeutiques de la spiruline	27
1.7.9.1. Propriétés anti-inflammatoires.....	27
1.7.9.2. Activité anticoagulante :	27
1.7.9.3. Activité radio protectrice	28
1.7.9.4. Effet antioxydant.....	28
1.7.9.5. Action anti bactérienne	28
1.7.9.6. Activité antivirale.....	28
1.8. Potentialités et utilisation de la spiruline	28
1.8.1. Spiruline à usage humain	29
1.8.1.1. Pour la santé.....	29
1.8.1.2. Spiruline à usage animal	30
1.9. Place de la Spiruline pour lutter contre la malnutrition	31
1.10. Propriétés de la spiruline comme complément alimentaire	31
1.11. Législation.....	32

Chapitre II : Généralités sur le poulet de chair

2. Généralités sur le poulet de chair.....	34
2.1. La volaille.....	34
2.2. La poule (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	34
2.3. Classification de la poule domestique	35
2.4. L'appareil digestif de poulet.....	35
2.4.1. Le pharynx	36
2.4.2. L'œsophage	36
2.4.3. Le jabot	36
2.4.4. Le pro ventricule ou ventricule succenturié.....	36

Sommaire

2.4.5. Le gésier.....	37
2.4.6. Le duodénum	37
2.4.7. Le jéjunum	38
2.4.8. L'iléon.....	38
2.4.9. Le caecum	38
2.4.10. Le rectum	38
2.4.11. Le cloaque.....	38
2.4.12. Les glandes annexes.....	38
a. Le pancréas	38
b. Le foie	39
2.5. La microflore digestive des volailles.....	39
2.6. Répartition de la flore intestinale du poulet	40
3. Les microorganismes commensaux et pathogènes.....	40
3.1. Les bactéries	40
3.1.1. Famille des Entérobactériaceae	40
a. Habitat.....	40
b. Les entérobactéries commensales.....	41
3.1.1.1. <i>Escherichia coli</i>	41
a. Classification scientifique	42
b. Habitat.....	42
c. Pouvoir pathogène.....	42
3.1.1.2. <i>Proteus mirabilis</i>	43
a. Classification scientifique.....	43
b. Habitat.....	43
c. Le pouvoir pathogène.....	43
3.1.1.3. <i>Enterobacter sp</i>	43
a. Habitat	44
b. Classification scientifique	44
c. Pouvoir pathogène.....	44
3.1.1.4. <i>Salmonella sp</i>	45
a. Classification scientifique	45
b. Habitat.....	45
c. Pouvoir pathogène.....	46

Sommaire

3.1.2. La famille des listeriaceae	46
3.1.2.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	46
a. Classification scientifique	47
b. Habitat.....	47
c. Pouvoir pathogène.....	47
3.1.3. La famille des Micrococcaceae	47
3.1.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	48
a. Classification scientifique	48
b. Habitat.....	48
c. Pouvoir pathogène.....	49
3.1.4. La famille des Pseudomonadaceae	50
3.1.4.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
a. Classification scientifique.....	51
b. Habitat.....	51
c. Pouvoir pathogène.....	51
3.2. Les parasites	52
3.2.1. La coccidiose aviaire	52
3.2.1.1. Classification	52
3.2.1.2. Les espèces coccidiennes aviaires	53
a. Pathogènes majeurs.....	53
b. Très pathogènes mais rares	53
c. Moyennement pathogène mais très fréquentes	53
d. Peu ou pas pathogènes	53
3.2.1.3. Structure et morphologie du parasite	54
a. L’oocyste.....	54
a.1. Oocyste non sporulé.....	54
a.2. L’oocyste sporulé.....	55
3.2.1.4. Cycle de développement de l’espèce Eimeria	55
3.2.1.5. Epidémiologie descriptive	56
3.2.1.6. Répartition géographique.....	57
3.2.1.7. Espèces affectées	57
3.2.1.8. Manifestation cliniques.....	58
a. Coccidiose caecale	58
a.1. Une forme suraigüe.....	58

Sommaire

a.2. Une forme aiguë.....	58
a.3. Une forme atténuée.....	59
b. Coccidiose intestinale.....	59
b.1. Forme aiguë.....	59
b.2. Forme atténuée.....	60
b.3. Forme subclinique.....	60
3.2.1.9. Les lésions.....	60
a. Coccidiose caecale (<i>Eimeria tenella</i>).....	61
a.1. Forme aiguë.....	61
a.2. Forme atténuée.....	62
b. Coccidioses intestinales.....	62
b.1. <i>Eimeria necatrix</i>	62
b.2. <i>Eimeria brunetti</i>	62
b.3. <i>Eimeria maxima</i>	62
b.4. <i>Eimeria acervulina</i> et <i>Eimeria praecox</i>	63
b.4.1. <i>E. acervulina</i>	63
b.4.2. <i>E. praecox</i>	63
b.5. <i>Eimeria mitis</i>	63
3.2.1.10. Prophylaxie.....	64
a. Prophylaxie sanitaire.....	64
b. Prophylaxie médicale.....	65
3.2.1.11. Problèmes de résistance.....	66

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

3. Matériels et méthodes.....	67
3.1. Problématique.....	67
3.2. Objectif.....	67
3.3. Matériels et méthodes.....	67
3.3.1. Matériel biologique.....	67
3.3.2. Matériels.....	67
3.4. Produits chimiques :.....	67
3.5. Méthodes d'extraction.....	68
3.5.1. Extraction des huiles par méthode de Folch.....	68

Sommaire

3.5.2. Extraction de l'extrait brut par macération.....	69
3.6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de spiruline.....	71
3.6.1. Isolement, purification et identification des bactéries.....	71
a. Isolement des entérobactéries.....	71
a.1. Le pré-enrichissement.....	72
a.2. L'enrichissement.....	72
a.3. L'isolement.....	72
a. 4. Identification des espèces isolées.....	73
b. isolement de <i>Staphylococcus aureus</i>	73
b.1. L'enrichissement.....	73
b.2. L'isolement.....	73
c. Activation et repiquage de <i>Listeria Monocytogène, Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>S.typhimirium et S.enteritidis</i>	74
c.1. Activation.....	74
c.2.Repiquage.....	74
3.7. L'antibiogramme.....	74
3.7.1. Préparation de l'inoculum.....	74
3.7.3. Préparation des disques.....	76
3.7.3.1. Préparation de l'inoculum.....	76
3.6.3.2. Préparation des disques de la spiruline.....	76
3.8. Etude de l'activité antiparasitaire (anticoccidienne) des extraits de la spiruline.....	76
3.8.1. Préparation des milieux de culture.....	76
3.8.1.1. Solution d'HBSS-agar.....	76
3.8.1.2. Solution tampon PBS (phosphate buffered saline).....	77
3.8.2. Prélèvement des échantillons.....	77
3.9. Effets des extraits de la spiruline sur le nombre des oocystes.....	78
3.9.1. Examen microscopique direct.....	78
3.9.2.1. Effets des extraits de plantes sur le nombre d'oocystes.....	79
3.9.2.2. Effets des extraits de la spiruline sur le nombre des oocystes et la libération des substances absorbants à 273nm.....	80

Sommaire

Chapitre IV : Résultats et discussions

4. Résultats et discussions.....	81
4.1. Résultats de l'isolement et l'identification des souches bactériennes.....	81
4.1.1. Isolement et identification des entérobactéries.....	81
a. Isolement.....	81
b. Identification.....	82
4.1.2. Isolement et identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	85
a. Isolement.....	85
b. Identification.....	85
4.2. L'activité antibactérienne des extraits de la spiruline.....	86
4.2.1. <i>Escherichia coli</i>	87
4.2.2. <i>Enterobacter sp</i>	88
4.2.3. <i>Salmonella enteritidis</i>	89
4.2.4. <i>Salmonella gallinarum</i>	90
4.2.5. <i>Salmonella typhi</i>	91
4.2.6. <i>Salmonella typhimurium</i>	92
4.2.7. <i>Proteus mirabilis</i>	96
4.2.8. <i>Pseudomonas sp</i>	97
4.2.9. <i>Listeria monocytogenes</i>	100
4.2.10. <i>Staphylococcus aureus</i>	102
4.3. L'activité anticoccidienne des extraits de la spiruline.....	104
4.3.1. Examen microscopique direct des oocystes.....	104
4.3.2. Les résultats du dénombrement des oocystes d' <i>Eimeria</i> à partir de la microplaque.....	105
a. Echantillon caecal.....	106
b. Echantillon intestinal.....	108
4.3.3. L'effet des extraits de la spiruline sur le nombre des oocystes et la libération des substances absorbants à 273nm.....	111
a. Echantillon caecal.....	112
b. Echantillon intestinal.....	114
4.3.4. Comparaison entre les deux techniques.....	115
a. Echantillon caecal.....	116
b. Echantillon intestinal.....	116

Sommaire

Discussion générale.....	117
Conclusion.....	121

Introduction

Au-delà des micro-algues d'eaux douces ou salées, bien connues de tous, les algues présentent une formidable diversité que ce soit par le nombre d'espèces ou pas leur forme et leur biologie.

Apparues, il y a probablement plus de trois milliard d'années, des algues (les algues bleues) furent les premiers organismes photosynthétiques présents à la surface du globe. D'abord microscopiques, les algues ont évolué vers des formes plus complexes pour atteindre aujourd'hui un niveau de diversité élevé : on compte environ 30 000 espèces actuellement réparties en 11 embranchements.

De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses espèces d'algues comme la spiruline qui commence à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentiel de molécules naturelles bioactives.

La Spiruline est une cyanobactérie faisant partie des plus anciennes formes de vie terrestre. Consommée depuis des siècles par certains peuples primitifs d'Afrique et d'Amérique, elle intéresse les scientifiques depuis plusieurs décennies par sa richesse nutritionnelle et ses multiples intérêts thérapeutiques, riche en protéines, vitamines, oligoéléments molécules complexes, la spiruline permet de couvrir de nombreuses carences nutritives.

La recherche scientifique de plusieurs pays a mis en évidence son intérêt dans la lutte contre le cancer, le vieillissement cellulaire, les maladies infectieuses et les baisses du système immunitaire, ainsi qu'une action majeure dans le fonctionnement de la moelle osseuse (stimulation de l'érythropoïèse).

Récemment le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, et la toxicité des antioxydants synthétiques, a conduit de chercher des substances naturelles dotées d'activité antimicrobienne.

Les volailles représentent une source précieuse de protéines animales d'une grande valeur biologique et sont le produit le plus consommable mais au cours de l'élevage de poulet de chair il se pose beaucoup de problèmes sanitaires. En premier lieu les maladies parasitaires tel que la coccidiose aviaires qui a de graves conséquences économiques et les infections bactériennes et comme solution on les traite par la spiruline au lieu des anticoccidiens et des antibiotiques.

L'objectif de cette étude est de tester les effets antibactériens et anticoccidiens des extraits de la spiruline

1. Généralités sur la spiruline

La spiruline est une cyanobactérie faisant partie des plus anciennes formes de vie terrestre. Consommée depuis des siècles par certains peuples primitifs d'Afrique et d'Amérique, elle intéresse les scientifiques depuis plusieurs décennies par sa richesse nutritionnelle et ses multiples intérêts thérapeutiques. Riche en protéines, vitamines, oligoéléments, molécules complexes, la spiruline permet de couvrir de nombreuses carences nutritives.

La recherche scientifique de multiples pays a mis en évidence son intérêt dans la lutte contre le cancer, le vieillissement cellulaire, les maladies infectieuses et les baisses de système immunitaire, ainsi qu'une action majeure dans le fonctionnement de la moelle osseuse (stimulation de l'érythropoïèse)

La spiruline est particulièrement populaire grâce à ses remarquables qualités nutritionnelles : protéines, fer, vitamines et acides aminés, dont le fameux oméga 3. Transformée en pâte ou en poudre, elle devient une sorte de 'super cocktail naturel' parfaitement équilibré en éléments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Consommée par les Aztèques au XI^e siècle et par les riverains du lac Tchad où elle se développe naturellement, la spiruline est aujourd'hui cultivée dans le monde entier. Commercialisée comme complément alimentaire, elle est vendue au rayon 'bien-être' des magasins bio (**Tsarahevitra, 2005**).

La production de la Spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle. Les éléments de différenciation de ces modes de production sont la surface totale des bassins de culture et leurs surfaces unitaires, les moyens et matériaux utilisés, les degrés de technologie, les objectifs. Le processus de fabrication de la Spiruline passe cependant par les mêmes étapes obligatoires, lesquelles seront décrites ci-après, sur la base des méthodes artisanales (**Tsarahevitra, 2005**).

1.1. Description historique

La spiruline est considérée souvent comme une algue planctonique microscopique. C'est en fait une bactérie appartenant aux cyanobactéries filamenteuses du genre *Arthrospira*, le plus souvent enroulée en spires (d'où son nom commercial). La spiruline est la plus ancienne forme de vie 'verte' apparue sur terre il y a environ trois milliards et demi d'années. Les aztèques et les peuplades autochtones du Tchad l'ont consommée pendant des siècles, et elle fait encore l'objet d'une récolte, d'une consommation et d'un commerce importants chez les Tchadiens, qui la nomment dihé.

Il est probable qu'il y a trois milliards d'années la spiruline était présente sur toute la surface du globe. Aujourd'hui, on la trouve surtout en Tchad et au Mexique, mais aussi de façon ponctuelle dans les lacs ou étangs offrant les conditions de développement adaptées à ce micro-organisme (pH élevé, substance nutritives azotées, gaz carbonique).

La spiruline a été découverte par hasard naturellement dans une mare située dans le sud-ouest de la Corse. De manière générale, l'habitat habituel de la spiruline est formé d'étendues d'eau douce plus au moins vastes, situés en zone tropicale et bénéficiant d'un pH de 8 à 11 et d'une température moyenne de 25 à 40 C°. La spiruline, si elle est l'une des premières formes de vie terrestre, n'en a pas moins suscité que tardivement l'intérêt des scientifiques occidentaux.

La première mention écrite que l'on connaisse remonte à Cortés qui, en ses Mémoires, décrit vers 1521 la façon dont les Aztèques la récoltaient et la consommaient : après l'avoir fait sécher au soleil, ils obtenaient des sortes de pains, les *tecuilatl*, qui étaient en fait la base de leur alimentation. Elle fut redécouverte au Tchad vers 1930 par un pharmacien français des troupes coloniales. En 1959, Brandilly, anthropologue et cinéaste, publie un article sur la spiruline : 'Depuis des lustres, une tribu, africaine du Tchad (les Kanembous) exploite la nourriture de l'an 2000.

Depuis les années 1980, la spiruline a fait l'objet de plusieurs dizaines d'études scientifiques par des chercheurs du monde entier, et nous sommes encore loin de connaître tous les effets bénéfiques d'une consommation quotidienne de spiruline (**Andréani, 2005**).

Les cyanotoxines ne seraient pas présentes dans la spiruline. Il existe aujourd'hui une méthode 'multiplex PCR' de détection des gènes impliqués dans la synthèse des microcystines, qui sont des cyanotoxines présentes dans les cyanobactéries (**Saker et al., 2007**).

Des analyses réalisées par un laboratoire indépendant ont montré l'absence de Beta-N méthylamino- L- alanine (BMAA) dans la spiruline produite par Cyanotech. Cependant, il paraît important de vérifier si le gène responsable de la synthèse du BMAA existe dans le génome de la spiruline et si c'est le cas, de connaître les conditions de cultures qui provoquent ou non l'expression du gène. A cause de ce risque, Gantar et Svircev (2008) estiment qu'il vaut mieux extraire les molécules actives de la spiruline plutôt que la consommer directement (**Blanchot et Coll, 2008**).

La spiruline accumule les métaux lourds mais en quantité en dessous des seuils de toxicité donnés par la FAO. Cependant, les mêmes auteurs recommandent des contrôles de teneurs

en métaux lourds pour la Spiruline destinée à l'alimentation humaine (**Flaquet and Hurni, 2006**).

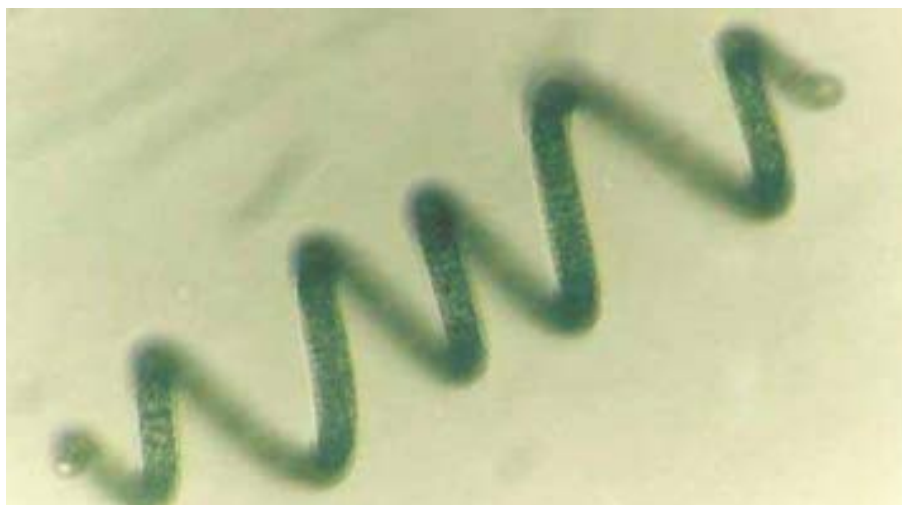


Figure 1 : forme végétative d'*Arthrospira plantensis*

1.2. Taxonomie

La spiruline était à l'origine considérée comme une algue. Cependant, en 1960 une claire distinction entre procaryote et eucaryote a été définie, basée sur la différence d'organisation cellulaire : les procaryotes regroupent les organismes dépourvus de compartiment cellulaire, tandis que les nucléoles et des mitochondries (**Durand, 1999**).

En 1992, (**Scanier and vassiel, 1962; Stanier, 1974**) constataient que cette algue bleu-vert était dépourvue de compartiment cellulaire, et donc faisait partie des procaryotes ; ils proposaient de désigner ce microorganisme 'cyanobactérie'. Cette nouvelle désignation est finalement acceptée et figurée pour la première fois au 'Bergy Manual of Déterminative Bactériologie en 1974 (**Stanier, 1974; Durand, 1993**).

La spiruline est une cyanobactérie. Elle appartient donc au domaine des bactéries (Bacteria) et se classe parmi les bactéries gram négatives. Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthétiser avec production d'oxygène et peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires.

La spiruline appartient à l'ordre des Nostocales (= oscillatoriales), la famille des oscillatoriaceae, le genre oscillatoria et le sous genre Spirulina ou Arthrospira (**Charpy et al., 2008**)

Avant de développer l'état actuel des connaissances scientifiques sur la spiruline, il convient de préciser une terminologie confuse (tableau 1).

Tableau.1 : les diverses appellations de la spiruline (**Andréani, 2005**)

Les appellations de la spiruline	Définitions
Spiruline	Nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre <i>Arthrospira</i>
Spirulina	Nom commercial anglais de la même cyanobactérie
Spirulina	Nom scientifique et taxonomique d'une autre cyanobactérie fort éloignée des <i>Arthrospira</i> . Aucune à ce jour n'a été étudiée sous l'angle de l'alimentation humaine. Et aucune n'est commercialisée à cette fin
<i>Arthrospira</i>	est le nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries auxquelles appartient notre spiruline alimentaire

On la classe donc selon **Fox** (1999a) dans :

- Règne Monera
- Groupe ou sous règne des procaryotes
- Embrechement des Cyanophyta
- Ordre des Nostocales (= oscillatiriales)

Les Nostocales sont des cyanophycées filamenteuses unisériées, ramifiées (fausses ramification simples ou géminées) ou non ramifiées. Elles se multiplient le plus souvent par homogonies pluricellulaires et parfois par acinètes.

- Famille des oscillatoriaceae

Les oscillatoriaceae se caractérisent par : des trichomes cylindriques, unisériées, simples, qui sont atténués parfois à l'apex par une courbure ou par la présence d'une coiffe, mais jamais en poils articulés. Les trichomes sont nus ou pourvus d'une gaine.

- Genre oscillatoria

Les trichomes sont libres, solitaire et dépourvus de gaine. Ils sont droits ou flexueux et parfois tordus en une hélice régulière.

- Sous genre Spirulina

On peut considérer *Spirulina* comme sous genre d'oscillatoria, car elle diffère seulement par l'enroulement hélicoïdal du trichome. Chez *Spirulina*, les trichomes sont régulièrement enroulés en hélice plus ou moins serrée et leurs cloisons sont plus ou moins visibles.

- Sous genre Arthrospira

Le trichome est de grande taille et les cloisons sont bien marquées.

Cette micro algue change de forme en fonction des caractéristiques physiques et chimiques du milieu dans lequel on la trouve. Mais on remarque que dans un même milieu on trouve des variétés des formes (figure 2). C'est peut-être là l'origine de la confusion entre les termes *Spirulina* et *Arthrospira* (Fox, 1999a).

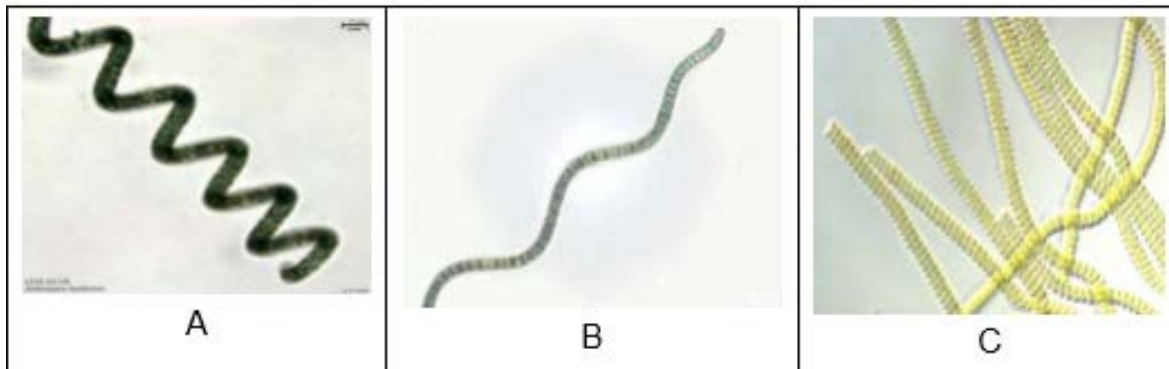


Figure 2 : Différentes formes prises par la spiruline. A= forme spiralée (*Arthrospira fusiformis*), B=forme ondulée (*Spirulina maxima*), C= *Arthrospira plantensis* (Charpy et al., 2008).

1.3. Répartition géographique

La spiruline se développe préférentiellement dans les eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salines de régions tropicales et semi-tropicales (Castenholz et al., 2001).

Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tanzanie) en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie au sud (Inde, Se Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Il est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du nord et en Europe.

Plus précisément, la Spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome.

L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice (**Muhling et al., 2003**).

Cette morphologie typique lui permet de se déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vis. Le système pigmentaire de la Spiruline est constitué de chlorophylle a ; de pigments hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleu (phycocyanine) ; de caroténoïdes (β -carotène, cryptoxanthine) (**Charpy et al., 2008**).

1.4. Cycle biologique

Le cycle est schématisé dans la Figure 3. Le filament de Spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées nécriides. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés hormogonies. Les hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale. En conditions expérimentales, le temps de génération (passage d'une génération à une autre) maximal de la Spiruline est de l'ordre de 7 heures (**Zarrouk, 1966**).

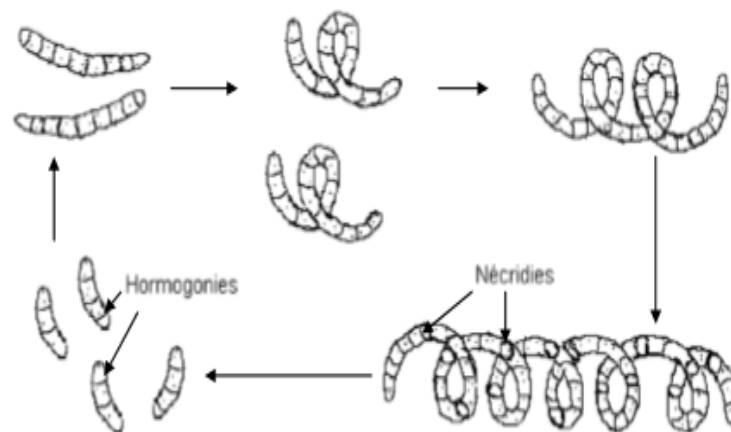


Figure 3 : Cycle biologique de la spiruline (**Balloni et al., 1980**).

1.5. Morphologie et caractères généraux :

La spiruline est une cyanophycée microscopique d'une longueur moyenne d'environ 250 μ m. Elle est composée de filaments mobiles de 10 à 12 μ m de diamètre non ramifiés et

enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires. Cette forme hélicoïdale lui donnant l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de 'spiruline' (**Geitler, 1932**).

Ces différentes formes dépendent des conditions écologiques dans laquelle vivent les spirulines. Une étude (basée sur la caractérisation moléculaire de l'TTS (Internationally transcribed Space) de l'opéron ARN ribosomal) portant sur la diversité génétique de 51 souches d'Arthrospira provenant de quatre continents ' arrivent à la conclusion que les génotypes sont très conservés et correspondent peut-être à une ou deux espèces génétiques (**Wilmote et al., 2004**).

Cela laisse supposer que le nombre d'espèces du genre est réduit. Plus précisément, la spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout ormant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice. Cette morphologie typique lui permet de se déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vie (**Muhling et al., 2003**).

Les cyanobactéries peuvent être pluri-ou unicellulaire et tirent leur énergie de la photosynthèse (présence de chlorophylle), ce qui les rapproche du monde végétal. Quand elles sont pluricellulaires, elles s'organisent en amas formant colonies ou encore en filaments, les trichomes. Leur paroi est de type Gram – et, malgré leur système photosynthétique, ce sont des procaryotes vrais. Le photosystème est inclus dans des granules qui contiennent aussi un pigment rare, la phycocyanine. Ce pigment protéique confère à la spiruline sa couleur bleu-vert, ainsi qu'une fluorescence rouge.

Les cyanobactéries ne possèdent pas de cycle de Krebs complet et absorbent le carbone et l'énergie sous forme de glycogène, selon le cycle de Calvin. Beaucoup de cyanobactérie sont capables de fixer l'azote de l'air grâce à des structures spécialisées appelées hétérocystes. Elles se déplacent dans les liquides à l'aide de vacuoles gazeuses ou encore par glissement, à l'aide de microfibrilles (**Andréani, 2005**).

La spiruline est trop riche d'éléments essentiels pour la survie de l'organisme, ce qui la rend une source d'aliment importante (tableau 2).

Tableau 2 : Composition de la spiruline (Andréani, 2005).

Eléments	Role chaque éléments dans la spiruline
Protéines	70% du poids sec, avec tous les aa . y compris les aa E et les aa soufrés méthionine et cystéine
Glucides	15 à 25 % du poids sec, très peu de glucides simples, surtout des glucides complexes sous forme depolysacharides membranaires aux propriétés immunostimulantes
Lipides	Jusqu'à 11% maximum du poids sec, à noter la présence d'acide gamma-linolénique, AGE (acide gras essentiels) du groupe des oméga -, précurseur des prostaglandines, des leucotriènes et des thromboxanes, médiateurs chimiques impliqués dans les processus immunitaires et inflammatoires.
Béta-carotène (provitamine A)	Jusqu'à 800 mg par kilo, il participe au mécanisme de la vision, au métabolisme de la peau, au système
vitamine E ou tocophérol	Indispensable à la lutte contre les radicanx libres
oligoéléments	Nombreux comme le fer à forte concentration (seul fer végétal biodisponible), calcium à concentration supérieure à celle du lait de vache, phosphore, magnésium, cuivre, zinc, sélénium
Chlorophylle	Détoxiquante et purifiante
Phycocyanine	Active sur le fonctionnement de la moelle osseuse

1.6. Caractéristiques physicochimiques de la spiruline

1.6.1. Propriétés physiques

Pour se développer, la Spiruline a besoin d'éléments minéraux simples tels l'eau, les sels minéraux, le CO₂ et l'O₂ qu'elle puise directement dans son milieu tout en utilisant la lumière solaire comme source d'énergie grâce à son système pigmentaire. Ce mode de synthèse de biomasse est la photo autotrophie.

La Spiruline croît dans des milieux naturels caractérisés par des eaux saumâtres, chaudes, alcalines (8 < pH < 11,5) et natronées (fortement concentrées en carbonates et bicarbonates) de la zone intertropicale. En règle générale les phosphates, les carbonates, les nitrates et le fer, sont les éléments limitants de la production phytoplanctonique dans les milieux aquatiques. Dans les gisements naturels, ces éléments sont apportés par les bassins versants.

La Spiruline se développe dans des eaux chaudes (28 à 40°C) et bénéficiant d'une intensité lumineuse élevée. Le vent joue un rôle important en créant une agitation qui favorise une dispersion homogène de la Spiruline dans le milieu, et donc son exposition à la lumière. En milieu naturel, lorsque les conditions sont optimales, les Spirulines peuvent se développer en grande quantité et entrent alors en compétition avec d'autres organismes. Lors des efflorescences, la consommation des carbonates et bicarbonates entraîne une augmentation du pH limitant ainsi la croissance des autres microorganismes (**Charpy et al., 2008**).

1.6.2. Propriétés chimiques

La composition de la Spiruline dépend des éléments chimiques dont elle dispose dans le milieu. Ainsi, en milieu naturel, dans la région du Kanem (Tchad), la Spiruline récoltée n'est pas de qualité égale d'une région à l'autre. En milieu cultivé, il est possible de jouer sur les intrants et d'influer sur sa composition. La culture en bassin permet en tous les cas de maîtriser la qualité. La plupart des études des constituants de la Spiruline ont été réalisées sur *Spirulina platensis* (connue aussi sous l'appellation de *Arthrospira platensis* ou *S. geitler*).

Cette espèce sert de référence car sa composition est relativement constante même si elle varie selon la souche, les conditions de culture et le mode de conditionnement. Nous avons associé les potentiels thérapeutiques et nutritionnels aux composants de la Spiruline en nous basant sur des articles scientifiques, qui pour la plupart concernent des études sur les animaux et sur des tissus humains in vitro.

Nous gardons à l'esprit que l'expérimentation d'une molécule au laboratoire ou sur des animaux ne permet pas de prévoir complètement ses effets chez l'homme. Beaucoup d'articles concernant les effets thérapeutiques sont basés sur l'ingestion de Spiruline ou le traitement par des extraits du milieu de culture. Il est dans ce cas difficile de savoir quelles sont la ou les molécules qui agissent ou interagissent (**Charpy et al., 2008**)

1.7. Les valeurs nutritives de la spiruline

1.7.1. Les protéines

La teneur en protéines de la Spiruline est élevée. Elle représente 10 à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche (**Clément, 1975b; Fox 1999**).

Ce pourcentage est bien plus élevé que celui du poisson (25%), du soja (35%), de la poudre de lait (35%) et des céréales (14%) (**Henrikson, 1994**).

La Spiruline est très riche en matières azotées et en contient deux fois plus que le soja, trois fois plus que la viande ou le poisson. Cette richesse est cependant à relativiser compte tenu de la faible quantité de Spiruline utilisée en complément alimentaire (<10g par jour). Ce micro-organisme ne possède pas de paroi cellulosique mais une enveloppe relativement fragile, constituée de polysaccharides. Cette faible teneur en cellulose explique sa digestibilité de l'ordre de 75 à 83% (**Costa et al., 2002**).

De ce fait, la Spiruline ne nécessite pas de cuisson ni même l'administration d'un traitement spécial pour une bonne digestibilité protéique. Lorsque l'on regarde le spectre des acides aminés présents, on retrouve tous les acides aminés essentiels qui représentent un poids de 41% par rapport au poids total de tous les acides aminés présents. On peut donc dire que les protéines de la spiruline sont complètes.

Si l'on regarde plus en détails les acides aminés, on remarque que :

- La méthionine et la cystéine, acides aminés soufrés (**Clément, 1967; Bujard, 1979; AFFA, 1982**) sont assez faiblement représentés dans l'aminogramme (à 80% de la valeur conseillée par la FAO). La référence étant celle l'albumine de l'œuf et la caséine. Il sera donc judicieux de compléter l'apport en spiruline par des aliments riches en ces deux aminoacides : riz, millet, blé avec des lentilles, pois chiches par exemple. Ce qui permettra dans le même temps d'optimiser la valeur biologique de la spiruline déjà assez élevée.
- La présence d'acides aminés précurseurs de neurotransmetteurs dont en particulier le tryptophane, précurseur d'indolines : la sérotonine et la mélatonine, la tyrosine, précurseur des catécholamines : la dopamine et la noradrénaline et le glutamate, excitateur et précurseur du gammaaminobutyrate (GABA).

- L'histidine précurseur de l'histamine, une amine biogène aux multiples fonctions ayant notamment des rôles dans la sécrétion d'acide gastrique, dans la réponse immune et dans les processus inflammatoires.

- Les acides aminés à chaîne ramifiée : leucine, valine, isoleucine sont représentés en quantité non négligeable. Ils interviennent dans la stimulation des fonctions cérébrales et favorisent la régénération et la réparation du tissu musculaire.

Les protéines ont également d'autres rôles :

- Action sur la prise alimentaire et des effets sur la satiété

- Actions bactéricides, renforcement des défenses immunitaires de l'intestin entre autres **(Charlemagne, 2008)**.

Ce microorganisme ne possède pas de paroi cellulosique mais une enveloppe relativement fragile, constituée de polysaccharides. Cette faible teneur en cellulose explique sa digestibilité de l'ordre de 75 à 83% **(Costa et al., 2002)**.

L'acide aminé indispensable qui ne peut être synthétisé de novo par l'organisme et doit donc être apporté par l'alimentation La Spiruline possède la plupart des acides aminés dont les acides aminés essentiels que sont l'isoleucine (Ile), la leucine (Leu), la lysine (Lys), la méthionine (Met), la phénylalanine (Phe), la thréonine (Thr), le tryptophane (Trp) et la valine (Val). Les plus fortes teneurs sont celles de la leucine, la valine, et l'isoleucine.

Les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) ainsi que d'autres non-soufrés (tryptophane, lysine et l'histidine), essentiels chez l'enfant, sont peu abondants, ce qui relativise sa richesse protéique (Tableau 3) **(Charpy et al., 2008)**.

Tableau 3 : Pourcentage moyen des acides aminés de *Spirulina plantensis* selon différentes auteurs et de *spirulina maxima* d'après (**Browitzka, 1988**).

Acides aminés	Jacquet 1974	Clément 1975b	Fox 1999	Borowitzka
Acides aminés essentiels (%)	Jacquet 1974	Clément 1975b	Fox 1999	Borowitzka
Isoleucine	5.60	6.40	5.98	5.70
leucine	8.00	9.00	8.71	8.70
Lysine	4.20	4.50	5.25	5.10
Méthionine	2.25	2.60	2.85	2.60
Phénylalanine	4.40	4.60	5.09	5.00
Thréonine	4.70	5.50	5.58	5.40
Tryptophane	1.00	1.60	1.48	1.60
Valine	5.70	6.90	7.72	7.50
Acides aminés nonessentiels(%)	Jacquet 1974	Clément 1975b	Fox 1999	Borowitzka
Alanine	7.25	7.90	8.24	7.90
Arginine	6.60	6.70	7.92	7.60
Acide aspartique	9.30	9.20	9.50	9.10
Cystéine	0.95	0.90	0.93	0.90
Acide glutamique	NC	12.90	13.2	12.70
Glycine	4.80	5.00	5.07	4.80
Histidine	1.60	1.60	1.50	1.50
Proline	3.60	1.90	4.32	4.10
Sérine	5.00	5.60	5.46	5.30
tyrosine	4.30	4.90	NC	4.60

NC :

1.7.2. Les lipides

1.7.2.1. Lipides totaux

Bien que plusieurs publications (**Bujard, 1970; Santillan, 1974; Challem, 1981; Eartrise, 1986**) ont donné une valeur de 5.6 à 7% du poids sec en lipides totaux, de meilleurs systèmes d'extraction permettent d'obtenir des valeurs situées entre 6 et 13% (**Hudson, 1974; Cohen, 1997; Xue, 2002**).

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%), contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols (**Bujard, 1970; Santillan, 1974; Clément, 1975**).

La fraction saponifiable est surtout composée de monogalactosyl diglycérides et de digalactosyl diglycérides, 23%, de sulfoquinovosyl diglycérade, 5%, et de phosphatidyl glycérol, 25.9%. On ne trouve ni phosphatidyl choline, ni phosphatidyl éthanolamine, ni phosphatidyl inositol en quantités appréciables. Les triglycérades sont rares 0.3%. On détecte en outre 4.6% de phospholipides indéfinis (**Xue, 2002**).

1.7.2.2. Acides gras

On range actuellement les acides gras essentiels en deux groupes (oméga-3 et oméga-6) caractérisés par la position de l'insaturation la plus proche du groupe méthyl terminal. Comme les acides oméga-3 et oméga-6 sont convertis chez l'homme en dérivés biochimiques distincts qui semblent avoir des effets antagonistes, certains spécialistes recommandent actuellement un rapport oméga-6/oméga-3 situé entre 4 et 5 (**Pascaud, 1993**).

Pour une analyse détaillée des acides gras de la spiruline, on se rapportera à Hudson et Karis (**Hudson, 1974**) ; les glycolipides de la spiruline ont aussi été étudiés en détail (**Xue, 2002**).

L'extraction par le gaz carbonique super-critique des lipides de la spiruline, et particulièrement de l'acide linoléique semble la méthode de choix pour une extraction quantitative (**Mendes, 2005**).

Les acides gras oméga-3 et oméga-6 de la Spiruline préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme. Ceci pourrait expliquer en partie la diminution des taux en cholestérol et triglycérades observés lors des expériences de **Ramamoorthy et Premakumari (1996) and Samuels et al., (2002)**.

La Spiruline figurerait parmi les meilleures sources connues d'acide gamma-linoléique, avec le lait humain, et quelques huiles végétales peu connues (huile d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et de chanvre) (**Ciferri 1983; Cohen et al., 1993**).

La présence d'acide gamma-linoléique est à souligner du fait de sa rareté dans les aliments courants et que c'est un précurseur de médiateurs chimiques des réactions inflammatoires et immunitaires (**Falquet and Hurni, 2006**).

Les sulfolipides tels les sulfoquinovosyl diglycérades qui représentent 5% de la fraction saponifiable, intéressent les chercheurs pour leur activité protectrice contre des infections virales.

Le composant lipide sulfoquinovosyldiacylglycerol (SQDG) de *Spirulina platensis* riche en sulfolipides a démontré par expérience in vitro sa capacité à inhiber la transcriptase

inverse1 du hiv-1 et du hiv-2 alors que ce dernier est naturellement résistant à cette classe de molécules (**Kiet and Chastel, 2006**).

Le contenu en acide gras de la Spiruline peut être modifié suivant les conditions de culture (**Colla et al., 2004**)

A noter encore l'absence d'acides gras au nombre de carbone impair et une très faible teneur en acides gras à chaînes ramifiées, deux types de lipides non métabolisables par les animaux supérieurs. Enfin, la spiruline a été recommandée comme supplément alimentaire en cas de carence en acides gras essentiels .Il semble bien établi que le contenu en acide gras de la spiruline puisse être facilement modifié suivant les conditions de culture (**Colla, 2004**).

De plus, l'ajout de certains acides gras directement dans le milieu de culture de la spiruline peut largement modifier la composition lipidique de celle-ci ; ainsi en ajoutant des sels d'acide linoléique (C18 :2), on peut considérablement modifier la teneur en acide gamma-linolénique ainsi qu'en sulfolipides de la spiruline (**Quoc, 1994**).

Enfin, d'importantes variations dans le profil des acides gras ont été étudiées entre différentes souches de spiruline (*Arthrospira* sp) et l'absence d'acide alpha-linolénique a été bien établie (tableau4). Ce dernier acide gras peut même être considéré comme un facteur de discrimination entre le genre *Arthrospira* (qui n'en contient pas) et le genre *Spirulina*, qui en contient toujours (**Mühling, 2005**).

Tableau. 4 : Composition typique en pourcentage des principaux acides gras de 3 espèces de Spiruline d'après (**Pascaud et al., 1993**).

Acides gras	<i>S.pacifica</i>	<i>S.maxima</i>	<i>S.plantensis</i>
Palmitique (16 :0)	44.2	63.0	25.8
Palméoléique(16 :1) oméga-6	4.4	2.0	3.8
Stéarique (18 :0)	traces	1.0	1.7
Oléique (18 :1) oméga-6	0.4	4.0	16.6
Linoléique (18 :2) oméga-6	24.3	13.0	40.1
Gamma-linoléique (18 :3) oméga-6	22.1	13.0	40.1
Alpha-linoléique (18 :3) oméga-3	Traces	Traces	Traces

1.7.3. Les glucides

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines **(Quillet, 1975)**.

L'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que des glucosanes aminés (1.9% du poids sec) et des rhamnosanes aminés (9.7%) ou encore de glycogène (0.5%). Les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités Ce sont le glucose, le fructose et le saccharose ; on trouve aussi des polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol. Les parois cellulaires des spirulines s'apparentent à celles des bactéries Gram-positives puisqu'elles sont formées de glucosamines et d'acide muramique associés à des peptides. Bien que non digestibles, ces parois sont relativement fragiles et rendent le contenu cellulaire très accessible aux enzymes de digestion : c'est là un avantage important par rapport aux organismes pourvus de parois cellulosesiques (levures, chlorelles...).

Du point de vue nutritionnel, la seule substance glucidique intéressante par sa quantité chez la spiruline est le méso-inositol phosphate qui constitue une excellente source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350-850 mg/kg mat. sèche) **(Nippon-Ink, 1977; Challem, 1981)**.

Cette teneur en inositol est environ huit fois celle de la viande de bœuf et plusieurs centaines de fois celle des végétaux qui en sont les plus riches. Il faut toutefois remarquer qu'une teneur si élevée en cyclitols phosphates pourrait avoir à la longue un effet décalcifiant, si l'apport en calcium se trouvait insuffisant. Heureusement, dans le cas de la spiruline, ce danger est écarté par sa richesse en calcium, comparable à celle du lait **(Challem, 1981; Earthrise, 1986)**.

Notons que les polysaccharides de la spiruline auraient des effets de stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN **(Pang, 1988)** ce qui pourrait expliquer un effet radio-protecteur plusieurs fois mentionné à propos de la spiruline **(Qishen, 1989)**. D'autres explications ont été avancées pour expliquer cet effet, notamment la neutralisation des radicaux libres générés par l'irradiation.

Cette neutralisation rapide serait due prioritairement au beta-carotène, mais peut-être également à la phycocyanine. D'autre part, les métallo-thionéines abondantes dans la spiruline pourraient être impliquées dans l'excrétion accélérée de certains radio-isotopes tel qu'il a été observé lors d'une étude nutritionnelle portant sur un groupe d'enfants de Biélorussie gravement contaminés par les suites de la catastrophe de Tchernobyl **(Loseva, 1993)**.

Ces polysaccharides auraient également des propriétés immunostimulantes et immunorégulatrices (**Baojiang, 1994; Evets, 1994; Zhang, 1994**).

Un polysaccharide spécifique de la spiruline, le spirulan, a été isolé et partiellement caractérisé (**Lee, 1998; Lee, 2000**).

Porteur de nombreux résidus sulfate et contenant de l'acide uronique, il est fortement polyanionique ; son squelette consiste essentiellement en méthyl-rhamnose et méthyl-xylose. Cette substance semble prometteuse comme anti-viral dans certaines applications thérapeutiques (**Hayashi, 1996; Rechter, 2006**).

1.7.4. Les acides nucléiques

La teneur en acides nucléiques (ADN et ARN) est un point nutritionnel important car la dégradation biochimique d'une partie de leurs composants (les purines : adénine et guanine) produit en dernier lieu de l'acide urique. Or une élévation du taux d'acide urique plasmatique peut produire à la longue des calculs rénaux et des crises de goutte. On admet généralement que la dose maximum admissible à long terme d'acide nucléique se situe aux alentours de quatre grammes par jour, pour un adulte (**Boudène, 1975**).

Il faut ajouter que l'ARN produit deux fois plus d'acide urique que l'ADN, pour une même teneur en purines et que l'élévation du taux d'acide urique dépend aussi de multiples facteurs, tels que l'âge, le sexe ou encore l'obésité...

Chez *S. Platensis* comme chez *S. Maxima*, on rapporte des valeurs de 4.2 à 6% d'acides nucléiques totaux dans la matière sèche (**Santillan, 1974; Afaa, 1982**). La proportion d'ADN serait d'un quart à un tiers par rapport à l'ARN (15). Ces chiffres sont à mettre en rapport avec d'autres aliments (tableau 5). La teneur en acides nucléiques des spirulines est très inférieure à celle de la généralité des unicellulaires.

Tableau. 5 : Teneur en acides nucléiques de quelques aliments (**Flaquet and Hurni, 2006**).

Aliments	Acides nucléiques totaux (% mat. Sèche)
Viande de bœuf	1.5
Foie de bœuf	2.2
Spiruline	4-6
Levure	23

En se basant sur une valeur moyenne de 5% en acides nucléiques, la limite quotidienne de 4 grammes d'acides nucléiques représente le contenu de 80 grammes de spiruline sèche. Cette quantité équivaut à environ huit fois la dose de spiruline recommandée comme supplément alimentaire. On peut donc raisonnablement penser que la teneur en acides nucléiques de la spiruline ne pose pas de problèmes, même à long terme et pour des doses élevées (**Flaquet and Hurni, 2006**).

1.7.5. Les vitamines

1.7.5.1. Provitamine A (β -carotène)

Le β -carotène représente 40 à 80% des caroténoïdes présents dans la spiruline, le reste étant composé principalement (par ordre décroissant) de xanthophylle, de cryptoxanthine, d'échinénone, de zéaxanthine et de lutéine (**Palla, 1969**).

On trouve entre 700 et 2000 mg de beta-carotène et environ 100 à 600 mg de cryptoxanthine par kilo de spiruline sèche, ces deux caroténoïdes sont convertibles en vitamine A par les mammifères (**Careri, 2001**).

Quelques grammes de spiruline suffisent donc à couvrir entièrement les besoins en vitamine A d'un adulte. D'autre part, l'absence de rétinol (vitamine A libre) exclut un éventuel risque de surdosage, le β -carotène n'étant pas toxique par accumulation au contraire de la vitamine A.

La biodisponibilité des caroténoïdes de la spiruline a été démontrée aussi bien chez le rat que chez le poulet (**Ross, 1990; Mitchell, 1990; Kapoor, 1993**). Cette biodisponibilité a aussi été démontrée chez l'homme (**Gireesh, 2004**).

Des études cliniques ont également prouvé l'excellente utilisation des caroténoïdes de la spiruline chez l'humain (**Annapurna, 1991**).

De plus, une étude portant sur 5'000 enfants indiens d'âge préscolaire a montré la surprenante efficacité d'une dose quotidienne unique d'un gramme de spiruline sur la déficience chronique en vitamine A. Après 5 mois, la proportion d'enfants gravement déficients en vitamine A, c'est-à-dire présentant le symptôme de la "tache de Bitot" sur la conjonctive de l'œil, est passée de 80% à 10% (**Seshadri, 1993**).

Cette étude semble bien démontrer que de très faibles doses de spiruline suffisent déjà à réduire considérablement les risques de cécité et d'atteintes neurologiques consécutives à la déficience en vitamine A chez l'enfant.

Une étude en cours, soutenue par la fondation Nestlé, vise à déterminer précisément le devenir des caroténoïdes de la spiruline consommée par l'homme.

Cette étude fait appel à de la spiruline cultivée dans de l'eau lourde (D2O) afin d'en marquer isotopiquement les caroténoïdes : il devient ainsi possible de suivre le cheminement métabolique de ces constituants de la spiruline (Tang, 2000; Gireesh, 2001).

1.7.5.2. Vitamine E (tocophérols)

On trouve 50 à 190 mg de vitamine E par kilo de spiruline sèche (Nippon-Ink, 1977; Challem, 1981; Earthrise, 1986), teneur comparable à celle des germes de blé. Une publication plus récente et faisant appel à de meilleures techniques analytiques n'a trouvé que 13 mg/kg de tocophérol (Gomez, 2004).

1.7.5.3. Vitamines hydrosolubles

Bien que moins riche que la levure en vitamines du groupe B (B12 excepté), la spiruline constitue pourtant une bonne source de ces cofacteurs (tableau 6) :

Tableau.6 : Teneur en vitamines en µg/g de matière sèche de Spiruline (Falquet and Hurni, 2006).

Vitamine	Teneur (mg/kg)	Besoin/jour (adulte)(24-25)
B1	34-50	1.5 mg
B2	30-46	1.8 mg
B6	5-8	2.0 mg
B12	0.10-0.34*	0.003 mg
Niacine	130	20 mg
Folate	0.5	0.4 mg
Panhoténate	4.6-25	6-10 mg
Biotine	0.05	0.1-0.3 mg
C	Traces	15-30 mg

* hors pseudo-vitamine B12*

1.7.5.4. Vitamine B2

La spiruline est un apport non négligeable de vitamine B2 puisqu'elle en apporte environ, pour une dose journalière, 30%. La vitamine B2 intervient dans de nombreux processus. Elle a est un rôle protecteur contre l'oxydation.

Elle intervient dans le cycle du glutathion, dans les maladies cardiovasculaires (homocystéine), dans le métabolisme des sucres, des lipides et des protides notamment mais également dans le déclin des fonctions cognitives. Synthétisée en partie par le foie,

elle se retrouve principalement dans les feuilles des végétaux chlorophylliens, mais aussi dans les céréales, le poisson, la viande, les fruits, etc.. (**Charlemagne, 2008**).

1.7.5.5. Vitamine B12

La vitamine B12 se retrouve uniquement dans les produits animaliers. Ce qui amène bien souvent des carences aux personnes suivant des régimes alimentaires stricts tel que les végétariens. La spiruline représente une source très intéressante de vitamine B12, puisqu'elle apporte la quantité recommandée par jour. Néanmoins, il existe une controverse à propos de la biodisponibilité réelle du complexe B12 de la spiruline chez l'homme. Suivant les souches, les teneurs en vitamine B12 active varient (**Hau, 1995**).

La technique de dosage basée sur la chimiluminescence, permet de déterminer le contenu et l'identité des composés de la famille de la vitamine B12, les corrinoïdes (**Watanabe, 1999, 2002**) Il en résulte que le corrinoïde prédominant (83%) est une pseudo-B12 mais que la véritable vitamine B12 représente tout de même 17% des corrinoïdes totaux. Le composé prédominant ne semble pas avoir d'activité B12 chez l'homme mais n'interfère pas dans le métabolisme normal de la vitamine B12 (Watanabe, 1999). De plus, il est établi désormais que bien d'autres sources alimentaires de vitamine B12 contiennent-elles aussi de fortes proportions d'analogues métabolisables par l'homme (**Kondo, 1980; Kelly, 2005**).

1.7.6. Bioptérine

La spiruline contient une grande quantité de bioptérine (plus précisément l'alpha-glucoside de la bioptérine), qui semble jouer un rôle fondamental dans la protection de l'appareil photosynthétique contre les rayons UV (**Noguchi, 1999**).

Cette substance fortement fluorescente peut, chez l'homme, être convertie en un co-facteur enzymatique d'une très grande importance, la tétrahydrobioptérine. On ne peut considérer cette substance comme une vitamine, car elle peut être entièrement synthétisée chez l'humain; il existe toutefois des situations pathologiques liées à un manque de synthèse, situation qui peuvent être améliorée par un apport externe de tétrahydrobioptérine. L'efficacité de la bioptérine elle-même, par voie orale, n'est pas connue à ce jour (**Hattori, 2002**).

1.7.7. Les minéraux et oligo-élément

Les minéraux spécialement intéressants chez la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

1.7.7.1. Fer

La très haute teneur en fer de la spiruline cultivée (550-6000 mg/kg) est à souligner doublement du fait que les carences en fer sont très répandues (anémies ferriprives), surtout chez les femmes et les enfants et que les bonnes sources alimentaires de fer sont rares. Par comparaison les céréales complètes, classées parmi les meilleures sources de fer, n'en contiennent que 150 à 250 mg/kg; de plus le fer d'origine végétale ne présente qu'une très faible biodisponibilité, seul environ 5% de ce fer est réellement absorbable, à cause de la présence de facteurs anti-nutritionnels (comme les phytates et les tanins) qui empêchent la métabolisation du fer. Quant aux suppléments de fer donnés sous forme de sulfate ferreux, ils peuvent poser des problèmes de toxicité, probablement à cause de leur effet prooxydant et sont souvent responsables de diarrhées ou d'autres signes d'intolérance.

Dans le cas de la spiruline, la biodisponibilité élevée du fer a été démontrée tant chez le rat (**Johnson, 1986; Kapoor, 1993b**) que chez l'homme. Cette dernière étude démontre que le fer de la spiruline est mieux absorbé que celui de la viande, ce qui est exceptionnel pour un fer non-héminique. Selon les mêmes travaux, le taux de formation de ferritine après digestion de spiruline serait plus de six fois plus élevé que dans le cas d'une même quantité de fer apporté par digestion de viande (**Puyfoulhoux, 2001**).

Les spirulines naturelles contiennent rarement plus de 500 mg/kg de fer, quoique des valeurs supérieures à 1000 mg/kg de fer ont été publiées. Dans le cas des spirulines cultivées, l'ajout au milieu de culture de sels de fer, souvent complexés à l'EDTA ou à l'acide citrique, élève facilement ces valeurs entre 600 à 1000 mg/kg, voire bien au delà. Il est évident que de tels niveaux de fer placent ces spirulines dans un domaine plus pharmaceutique qu'alimentaire et pourraient poser d'éventuels problèmes de surdose en fer (**Campanella, 1999**).

1.7.7.2. Zinc

La spiruline cultivée sans apport intentionnel de zinc au milieu de culture n'en contient généralement que des traces (21-40 microg/g), alors qu'on peut en trouver dans certaines spirulines naturelles près de 400 microg/g (**Campanella, 1999**).

Ces valeurs sont insuffisantes pour que ces spirulines puissent être considérées comme de bonnes source de zinc, car les apports journaliers recommandés (AJR) sont de 0.6 à 3 mg/j chez un nourrisson/enfant (ces variations dépendent du type de régime alimentaire associé), de 4 à 12 mg/j pour un adolescent et de 3 à 8 mg/j chez l'adulte (**Who, 2004**).

La spiruline peut toutefois très facilement être enrichie en zinc (**Cogne, 2002**). On trouve actuellement sur le marché européen une spiruline titrant 6 mg de zinc par gramme

(Biorigin, 2006), Suivant la réelle biodisponibilité de ce zinc, 1 gramme d'une telle spiruline pourrait couvrir l'essentiel des besoins quotidiens en zinc d'un enfant, voire même d'un adulte. La biodisponibilité du zinc de la spiruline n'a pas encore fait l'objet de publications scientifiques, mais on peut raisonnablement s'attendre à de très bons résultats au vu de la biodisponibilité prouvée du fer et du magnésium de la spiruline (Yonghuan, 1994).

1.7.7.3. Magnésium

La spiruline peut être considérée comme une excellente source alimentaire de magnésium : elle en est naturellement riche, entre autre par sa teneur en chlorophylle³, et ce magnésium a été démontré biodisponible pour l'homme Il faut souligner que la carence en magnésium tend aussi à entraîner une carence en potassium, ce dernier n'étant alors plus absorbé par l'organisme. La spiruline qui est à la fois riche en magnésium et en potassium semble, là encore, parfaitement indiquée dans les formules de renutrition (Planes, 2002).

1.7.7.4. Sélénium

Le sélénium est un micro-élément essentiel qui intervient dans la protection contre les espèces oxygénées réactives (Li, 2003; Chen, 2005). Des essais de supplémentation menés sur des rats artificiellement carencés en sélénium ont aboutit à la conclusion que la spiruline enrichie en cet élément était une excellente source de sélénium (Cases, 1999). La biodisponibilité du sélénium de la spiruline est élevée, quoique moindre que celle du sélénite de sodium (Cases 2001). Il est toutefois possible d'extraire de la spiruline enrichie en sélénium une fraction présentant une bioassimilabilité égale ou supérieure à celle du sélénite de sodium (Cases, 2002).

1.7.7.5. Iode

On trouve des données indiquant la possibilité d'obtenir par sélection/adaptation des souches de spiruline capables de fixer de l'iode Ces travaux manquent toutefois de clarté et les teneurs en iode annoncées semblent sujettes à caution.

Comme les sels d'iode sont chers et que la spiruline ne semble pas, en conditions normales, concentrer activement cet élément, il est à craindre que l'enrichissement des milieux de culture n'aboutisse à un fort gaspillage (Mazo, 2004).

Du fait de l'importance de l'iode, il serait hautement souhaitable de continuer les recherches sur la possibilité d'enrichir la spiruline en cet élément. En particulier, d'autres états d'oxydation de l'iode devraient être testés dans les milieux de culture, par exemple l'iode élémentaire (sous forme d'anion I³⁻), les iodates et les periodates. L'ajout d'iode à

la spiruline après récolte nous ramènerait par ailleurs aux problématiques de la « fortification » des aliments, avec entre autres les difficultés liées au contrôle de qualité du produit final (et donc à sa sécurité) (**Mazo, 2004**).

1.7.7.6. Autres minéraux

Tout comme le zinc a mis longtemps à apparaître dans toute son importance en matière de lutte contre la malnutrition, gageons qu'une série d'autres micro-nutriments arriveront à leur tour sous les feux de l'actualité (tableau 7). Le cuivre, par exemple, semble bien devoir être absorbé en quantité proportionnelle aux apports de zinc, sous peine de troubles cardiaques (**Sandstead, 1995**).

L'utilisation de spiruline comme véritable échangeur d'ions dans divers travaux portant sur la dépollution laisse penser que la plupart des éléments capables de former des cations (et plus encore des polycations) pourraient faire, si nécessaire, l'objet d'enrichissement dans la spiruline L'arrivée sur le marché de « super-spirulines » enrichies en fer, en zinc, en magnésium ou en sélénium montre bien le potentiel de cette démarche : s'y ajouteront certainement des spirulines enrichies en cuivre, en chrome, en manganèse... ou en une véritable palette de micro-éléments (**Vannela, 2006**).

Calcium, phosphore et magnésium sont présents dans la spiruline en quantités comparables à celles trouvées dans le lait. Les quantités relatives de ces éléments sont équilibrées ce qui exclut le risque de décalcification par excès de phosphore. Une haute teneur en potassium est également à souligner car dans le cadre des pays industrialisés, bien des nutritionnistes s'élèvent contre les trop faibles rapports potassium/sodium de la grande majorité des aliments disponibles (**Falquet and Hurni, 2006**).

Tableau.7 : analyse typique des minéraux dans la spiruline (mg/kg)(Falquet and Hurni, 2006).

Minéraux	Teneur de la spiruline (mg/kg)	Doses requises (mg/jour)*
Calcium	1300-14000	1200
Phosphore	6700-9000	1000
Magnésium	2000-4000	250-350
Fer	600-6000**	18
Zinc	21-6000**	15
Cuivre	8-2000**	1.5-3
Chrome	2.8	0.5-2
Manganèse	25-37	5
Sodium	4500	500
Potassium	6400-15400	3500
sélénium	0.01-50**	0.05

* pour l'adulte (NCR,1980)*.

valeurs obtenues par enrichissements spécifiques.

1.7.8. Les pigments

1.7.8.1. La phycocyanine

Elle est constituée d'une structure protéique reliée à un chromophore. C'est un pigment assez rare dans la nature qui absorbe la lumière dans une longueur de 61 à 650 nanomètres. Elle est représentée à environ à hauteur de 10 à 11% en moyenne dans la spiruline. Appréciée comme colorant bleu naturel dans l'industrie agroalimentaires, de nombreuses recherches sont en cours pour connaître toutes ses propriétés. Sa structure particulière lui confère des propriétés antioxydantes, antiradicalaires et détoxifiantes. La phycocyanine stimulerait également la production des globules rouges et des globules blancs (Charlemagne,2008).

1.7.8.2. La chlorophylle

Elle est un pigment essentiel de la photosynthèse puisqu'elle transforme l'énergie lumineuse en énergie chimique. Constituée d'un atome de magnésium en son centre, la chlorophylle est parfois comparée à l'hémoglobine qui possède quant à elle un atome de fer. La spiruline en contient environ 1%, ce qui stimulerait les fonctions de presque tous les organes (Charlemagne, 2008).

1.7.8.3. Les caroténoïdes

Elles sont des pigments non azotés dont la coloration varie du jaune au rouge. La plupart des caroténoïdes sont des provitamines A indispensables aux hommes et aux animaux. La spiruline en contient entre 20 et 25 fois plus que les carottes. Le bêta carotène représente 80% des caroténoïdes présents. Les caroténoïdes ont une action anti radicalaire. Ils participent également à la croissance et au développement de l'individu, ainsi qu'au maintien de la vision nocturne (Charlemagne, 2008).

Pour 10 g de spiruline, la proportions des pigments elle est énormément importante (tableau 8, figure 4).

Tableau.8 : Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de *Spirulina plantensis* (Pierlovisi, 2007).

Pigments	Teneur en mg/10g
Chlorophylles totales	115
Chlorophylle a	61-75
Caroténoïdes (orange)	37
Phycocyanine (bleu)	1500-2000
Phycoérythrine (rouge)	2900-10000

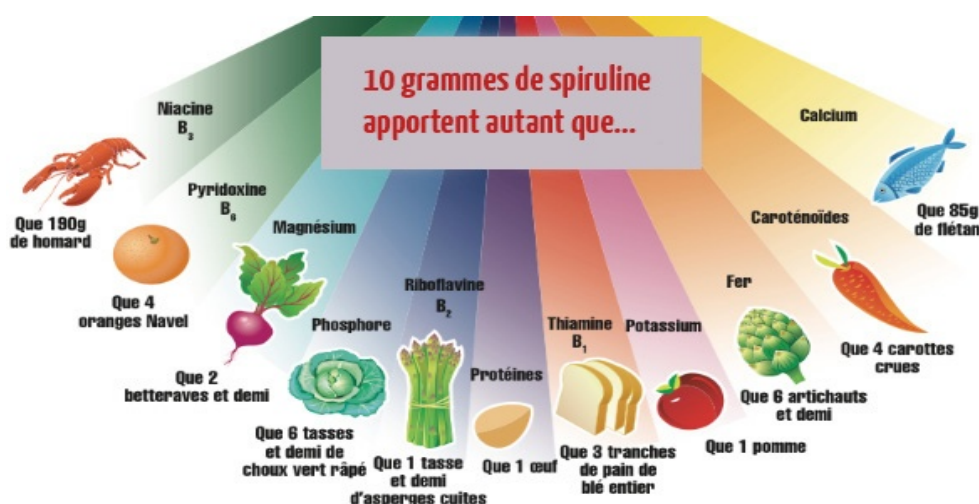


Figure 4 : les valeurs nutritives présentes dans 10 g de spiruline (Falquet and Hurni, 2006).

La spiruline sert à lutter contre la malnutrition. Elle est utilisée à cette fin depuis plus de 30 ans par l'ONG genevoise Antenna Technologies pour maintenir en bonne santé les enfants de certaines tribus d'Afrique et de Madagascar, à l'image de la tribu Kanembous au Tchad qui cultive la spiruline naturelle depuis des centaines d'années et voit ses enfants en pleine santé (**Falquet and Hurni, 2006**).

1.7.9. Propriétés thérapeutiques de la spiruline

1.7.9.1. Propriétés anti-inflammatoires

La richesse de la spiruline en protéine et en acide gras notamment les oméga 3 et 6 qui ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme lui donne un intérêt biologique particulier puisque cet acide gras est un précurseur des prostaglandines, molécules ayant une activité anti-inflammatoire et immunostimulante au sein de l'organisme (**Charpy et al., 2008**).

La phycocyanine, un pigment assez rare dans la nature, fait partie des éléments nutritifs d'*Arthrospira plantensis*, ce composant inhibe la formation de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α , supprimant l'expression de la cyclooxygénase 2 (COX-2), médiateur principal de l'inflammation, et diminuant la production de prostaglandine E. La phycocyanine stimulerait également la production des globules rouges et des globules blancs.

Un autre composant présent dans la spiruline serait à l'origine de l'activité anti-inflammatoire, le β -carotène ou la provitamine A. Il aurait pour impact l'inhibition de l'expression de COX-2 ainsi que de TNF- α et IL-1 β et la production de prostaglandine E (**Charlemagne, 2008**)

Plusieurs expériences positives sur les animaux attestent que les polysaccharides de la Spiruline régulerait favorablement le système immunitaire (**Qureshi et al 1996; Pascaud et al., 1993; Borchers et al., 2007**). Elle augmenterait l'activation des macrophages, l'activité des cellules T et l'activité des cellules naturellement destructrices (NK). Ce processus permettrait la libération des gamma-interféron (IFN - γ), ce qui peut éventuellement rendre les virus inactifs. Ces actions se feraient par le biais des (**Charpy et al., 2008**)

1.7.9.2. Activité anticoagulante :

Le Spirulane Calcique (Sp-Ca) agirait en activant le cofacteur II de l'héparine, molécule qui inhibe la thrombine, donc la coagulation (Hayakawa et al. 1996, 2000, 2003).

Le Spirulane Sodique (Sp-Na), autre polysaccharide sulfaté spécifique à la Spiruline, aurait aussi des effets anticoagulants (Yamamoto et al. 2003 (**Charpy et al., 2008**)).

1.7.9.3. Activité radio protectrice

Zhang et al. (2001) considèrent que la Spiruline pourrait améliorer la restauration de l'hématopoïèse³ chez l'homme et être ainsi utilisée comme traitement dans les thérapies anticancéreuses pour en diminuer les effets secondaires (**Charpy et al., 2008**).

1.7.9.4. Effet antioxydant

La spiruline est l'un des aliments les plus riches en bêta-carotène et vitamine E. Depuis plusieurs années des recherches ont prouvés que la consommation d'aliments riche en bêta-carotène assurait un rôle de prévention des risques de cancers. Les caroténoïdes naturels contenus dans les algues et les légumes ont un meilleur pouvoir antioxydant (**Sguera, 2008**).

1.7.9.5. Action anti bactérienne

La spiruline possède des mécanismes de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes. En effet, des études in vitro d'extraits de spiruline sur les bactéries E.coli et .aureus ont permis d'observer un potentiel antimicrobien.

Les résultats de différents extraits de spiruline sur diverses bactéries ne permettent pas de définir une substance antibactérienne particulière mais un spectre d'action antibactérienne qui serait un support pour démontrer le potentiel en termes d'activités antibactérienne de la cyanobactérie (**Kaushik and Chauhan, 2008**).

1.7.9.6. Activité antivirale

L'activité antivirale de la Spiruline a été étudiée sur l'inhibition de la pénétration du virus Herpes simplex dans les cellules HeLa et chez des hamsters (**Hayashi et al., 1993**). Plus tard, (**Hayashi et al., 1996**) mettent en évidence le rôle de Sp-Ca qui interviendrait selon deux mécanismes 1) inhibition de la pénétration des virus 2) inhibition de la phase de réplication des virus (**Charpy et al., 2008**)

1.7.9.7. Activité antiparasitaire

Les acides gras n-3 ont un effet positif dans la lutte contre les maladies parasitaires, et en particulier les coccidioses aviaires caecales. Ainsi, lors d'infection par *E.tenella*, l'huile entraîne une réduction des lésions, un retard de développement du parasite (**Allen et al., 1996**), et parfois un meilleur gain de poids (**Korver et al., 1997**).

1.8. Potentialités et utilisation de la spiruline

Le marché de la Spiruline se développe avec une utilisation chez l'homme, chez l'animal et sous forme d'extrait comme la phycocyanine.

1.8.1. Spiruline à usage humain

1.8.1.1. Pour la santé

Dans les pays développés, et depuis peu dans quelques régions d'Afrique, la Spiruline est consommée comme complément alimentaire « bénéfique à la santé ». Elle est vendue dans le secteur des produits dits « Bio ». Diverses utilisations sont proposées par les négociants, avec des arguments basés sur la composition de cet organisme et les études sur les activités de ses composants. Nous présentons ci-dessous certaines utilisations, sans pouvoir juger de leur efficacité.

La Spiruline n'est pas un médicament, donc pas soumise à l'obligation de test d'efficacité : le dosage recommandé et la qualité du produit vendu ne sont pas nécessairement en adéquation avec les effets affichés.

La Spiruline est vendue :

- Pour une alimentation équilibrée : par ses apports en micronutriments.
- Dans les régimes amaigrissants : pour ses taux importants en protéines et en phénylalanine, qui régularaient l'appétit.
- Pour l'amélioration des capacités sportives : par ses teneurs en fer, en vitamine B12, et en β -carotène qui faciliteraient la récupération
- Pour lutter contre l'asthénie par son apport en oligoéléments et vitamines
- Pour ses effets sur la sénescence : par les propriétés antioxydantes du β -carotène, de la phycocyanine et de la vitamine E, elle serait un frein au vieillissement des cellules
- Pour son activité antioxydante liée à la phycocyanine.
- Pour son activité anticoagulante liée au Spirulane Calcique (Sp-Ca) et au Spirulane Sodique (Sp-Na).
- Pour renforcer le système immunitaire grâce aux polysaccharides.
- Pour son activité antivirale : liée au sulfoquinovosyldiacylglycerol riche en sulfolipides
- Pour son activité antitumorale liée à la phycocyanine
- Pour son activité pour diminuer le cholestérol grâce aux acides gras polyinsaturés omega-3 et oméga-6.
- Pour ses autres actions sur la santé :
 - une diminution du diabète chez l'homme (**Parikh et al., 2001**).

- une activité anti-inflammatoire sur les articulations (études sur la souris de **(Remirez et al., 2002)**).
- une hépato protection ; un effet possible de la molécule Spirulane-sodique dans la prévention de l'athérosclérose [L'article de **(Yamamoto et al., 2006)** sur cette dernière action révèle une activation par le Na-Sp du système fibrinolytique endothélial mais ne conclut pas sur le rôle du Na-Sp dans la prévention de cette maladie].
- **Autres utilisations**

Le groupe des cyanobactéries produit une variété de métabolites secondaires dans leur milieu de culture (Harrigan & Goetz 2002). Beaucoup de ces produits naturels ont des activités antibiotique, algicide, antiviral, **fongicide (Harrigan et al., 1999; Jaki et al., 1999; Mundt et al., 2001)**.

En cosmétique, la Spiruline est utilisée dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, par son action sur le renouvellement cellulaire et la tonicité des tissus (**Spolaore et al., 2006**). Elle est aussi utilisée en synergie avec d'autres algues, comme agent cicatrisant et antiseptique.

Dans l'agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la Spiruline.

Dans l'aérospatiale, l'agence spatiale européenne (ESA) s'est intéressée à la Spiruline dans le cadre de son programme MELISSA (Micro-Ecological Life Support System Alternative). Ce projet, prévoit d'utiliser dans l'espace un écosystème artificiel fermé¹¹ composé de plantes supérieures et de micro-organismes, en vue des voyages à longue distance (Terre - Mars par exemple). Commencé en 1989, ce programme implique à présent une dizaine d'équipes dans toute l'Europe et au Canada.

1.8.1.2. Spiruline à usage animal

La Spiruline est utilisée comme complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture, en agroalimentaire, pour des effets très spécifiques :

- **Favoriser la croissance et la fertilité**

Des études sur les poissons d'aquarium tels le Xiphophorus helleri (**James et al., 2006**) et la crevette Fenneropenaeus chinensis (**Kim et al., 2006**) ont montré les effets bénéfiques de Spirulina platensis en ce domaine. L'influence bénéfique sur la croissance,

de l'incorporation de Spiruline dans la nourriture des poulets de chair a été présentée par Razafindrajaona et al (**Tuléar, 2008**).

➤ **Renforcer les défenses immunitaires**

En aquaculture, la Spiruline est ajoutée aux granulés dans la nourriture des poissons d'élevage, plus souvent soumis à des infections virales et/ou bactériennes que les poissons sauvages. (**Watanuki et al., 2006**) ont mis en évidence l'effet immunostimulant de *Spirulina platensis* chez la carpe *Cyprinus carpio*. Des vétérinaires préconisent l'administration de Spiruline à des animaux domestiques.

➤ **Augmenter la pigmentation**

La Spiruline est utilisée pour ses pigments : • En aquariophilie pour accentuer la coloration des poissons d'ornement (**James et al., 2006**) • En aquaculture pour améliorer la pigmentation des crevettes et des poissons (**Regunathan and Wesley, 2006**) : • En agroalimentaire pour rendre les oeufs et la chair de poulet plus attrayants au consommateur par les caroténoïdes qu'elle contient (**Ciferr,i 1983; Henrikson, 1994; Toyomizu et al., 2001**).

1.9. Place de la Spiruline pour lutter contre la malnutrition

La Spiruline est utilisée pour lutter contre la malnutrition par les ONGs : les 3 principales sont Antenna Technologie France, Technap, Codegaz. Elles se sont basées sur la composition de cet organisme en micronutriments, son potentiel pour la santé et le fait qu'il soit cultivable localement. Elles ont développé les procédés de culture et leur action se poursuit, confortée par les témoignages des personnes qui utilisent la Spiruline. Malgré leurs efforts, la Spiruline n'a jamais été utilisée à grande échelle par les organismes internationaux de la santé (**Charpy et al., 2008**).

1.10. Propriétés de la spiruline comme complément alimentaire

La spiruline est une algue très digeste car contrairement aux autres végétaux elle n'est pas entourée de paroi cellulosique, l'organisme l'assimile ainsi plus facilement. De par sa très grande concentration en acides aminés, vitamines, sels minéraux, oligo-éléments et acides gras essentiels, la spiruline est utilisée comme complément alimentaire dans les régimes amincissants, pour réduire la fatigue ainsi que réduire les effets de la malnutrition. La grande concentration en fer (important pour la production d'hémoglobine) et en bêta-carotène, apporte une aide naturelle aux sportifs notamment pour l'oxygénation des muscles. La spiruline a également comme vertus d'améliorer les capacités de récupération, favoriser la reconstruction du muscle et d'améliorer les facultés d'endurance.

Une recherche récente menée en Israël établit que le bêta-carotène naturel issu des algues était nettement plus efficace que le bêta-carotène synthétique : il est mieux assimilé et contient en outre l'isomère 9-cis que l'on ne retrouve pas dans les formulations de synthèse.

Toutes ces vertus font de la spiruline un aliment important pour notre corps, longuement ignorée, elle se place aujourd'hui de plus en plus sur le devant de la scène et risque de devenir, dans les années à venir un acteur important contre la malnutrition et la sous nutrition mondiale.

Non seulement la spiruline est utilisée comme complément alimentaire, mais elle possède beaucoup de qualités qui améliorent la santé humaine dont :

- Aider à ralentir les phénomènes de vieillissement et d'oxydation.
- Combattre l'acné.
- Diminuer les troubles liés aux affections intestinales.
- Stimuler le système immunitaire.
- Contribuer à faire baisser le taux de cholestérol.
- Aider à combattre la leucoplasie, qui est une inflammation précancéreuse des muqueuses de la bouche et qui peut donc dégénérer en cancer.
- Réguler et abaisser le taux d'insuline chez les diabétiques.
- Réduire les effets provoqués par les rayons gammas.
- Combattre l'anémie et protéger contre les métaux lourds (**Lien A**).

1.11. Législation :

La spiruline répond à la législation sur les compléments alimentaires. Un récent décret a permis de fournir un cadre juridique complet pour les compléments alimentaires en transposant dans le droit national la majeure partie de la directive européenne n° 2002/46/CE.

Ce nouveau décret n°2006/352 du 20 mars 2006, reprend la définition européenne des compléments alimentaires : 'on entend par complément alimentaire, les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés.

Commercialisés sous forme de dose, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pillules et d'autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en quantités mesurées de faible quantité'.

L'étiquetage de ces produits doit comprendre la dénomination de vente de 'complément alimentaire', ainsi que d'autres informations comme le mode d'emploi détaillé, la dose journalière recommandée, la liste de toutes les substances utilisées lors de la fabrication, les précautions d'emploi. Ces produits doivent être enregistrés par la Direction Générale de la concurrence, de la consommation et de la Répression des Fraudes, après une évaluation préalable par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

La spiruline vendue en France est conforme à la législation. Dans plusieurs états africains, une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) est prévue pour la distribution de Spiruline (**Charpy et al., 2008**).

2. Généralités sur le poulet de chair

2.1. La volaille

La volaille prend une place importante dans l'alimentation, en effet, tout d'abord c'est un produit bon marché, mais également un produit de bonne qualité sur le plan diététique, car la volaille est riche en protéines et pauvre en graisses. Une volaille est un oiseau domestique, appartenant généralement aux gallinacés ou aux palmipèdes. En France, une définition légale (Arrêté, 2007) est « tout oiseau élevé ou détenu en captivité à des fins de reproduction, de production de viande, d'œufs de consommation ou de tout autre produit et de repeuplement de population de gibier à plumes ». La volaille est un terme collectif englobant l'ensemble des oiseaux de basse-cour, qui font l'objet de l'aviculture. L'aviculture est le terme employé lorsqu'on élève des oiseaux ou des volailles mais les lapins entrent également dans la classification. Il existe plusieurs espèces de volailles, mais on s'intéresse plus particulièrement à la poule (**Bisimwa, 2003**).

2.2. La poule (*Gallus gallus domesticus*)

Parmi les animaux que l'homme a apprivoisés au cours d'un long et difficile travail de domestication, la poule occupe une place importante en raison du caractère particulier des produits qu'elle fournit. La poule généralement considérée comme un des oiseaux les plus anciennement domestiqués en Europe, n'a pas été connue avant l'âge du bronze. Elle est originaire d'Asie où eût lieu sa domestication depuis des temps très anciens et où l'on trouve toutes les espèces sauvages du genre *Gallus* (**Bisimwa, 2003**). La poule ou coq ou encore poulet domestique (*Gallus gallus domesticus*) est une sous-espèce d'oiseau de l'ordre des Galliformes. Cet oiseau est élevé à la fois pour sa chair, pour ses œufs, et parfois pour ses plumes (**Van Eekeren et al., 2006**).

Dans le monde entier, il existe plus de 300 races de poules domestiques. On distingue trois principales catégories : les races purement commerciales, les races hybrides provenant de croisements et les races locales.

2.3. Classification de la poule domestique (Van Eekeren et al., 2006).

Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Classe	Aves
Ordre	Galliformes
Famille	Phasianidae
Genre	Gallus
Espèce	<i>Gallus gallus</i>
Sous-espèce	<i>domesticus</i>

Les races commerciales se répartissent en fonction de l'objectif principal de leur production :

- ponte d'œufs, généralement des races légères élevées pour leurs œufs, les pondeuses.
- production de viande, des races plus lourdes, les poulets de chair.
- à la fois ponte d'œufs et production de viande, les races mixtes. Les races pondeuses, de chair et mixtes se distinguent également en fonction de leur forme (Van Eekeren et al., 2006).

2.4. L'appareil digestif de poulet

Les volailles présentent de nombreuses particularités anatomiques et physiologiques par rapport aux mammifères. En effet, malgré la très grande hétérogénéité entre les différentes espèces aviaires, l'appareil digestif des volailles reste marqué par l'adaptation au vol, même chez les espèces qui ont perdu cette aptitude. Cette adaptation morphologique et fonctionnelle se trouve au niveau de la totalité des appareils et plus particulièrement l'appareil digestif. Le tube digestif malgré les différences de régime alimentaire est doué d'une grande capacité d'absorption qui permet de découvrir le métabolisme basal élevé de cette espèce (Beghoul, 2006).

Anatomiquement, l'appareil digestif des oiseaux est constitué par : un bec, une cavité buccale dépourvue de dents, un gosier, un œsophage, un jabot, des estomacs sécrétoire et musculaire, l'intestin débouchant dans le cloaque puis l'anus. Il comprend bien sûr toutes les glandes annexes : le foie et le pancréas comme le montre la **figure 5** (Villate, 2001).

2.4.1. Le pharynx

Le pharynx est le carrefour du tube digestif et des voies respiratoires. C'est un organe difficile à délimiter chez les oiseaux. D'un point de vue anatomique, on le limite 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 (**Alamargot, 1982**).

2.4.2. L'œsophage

L'œsophage est un organe tubuliforme musculo muqueux qui assure le transport des aliments de la cavité buccale à l'estomac. 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 (**Alamargot, 1982**).

2.4.3. Le jabot

Le jabot est un élargissement de l'œsophage en forme de réservoir situé à la base du cou. 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, qui est très mince, a une musculature (lisse) peu développée mais est riche en fibres élastiques (**Alamargot, 1982**).

2.4.4. Le pro ventricule ou ventricule succenturié

C'est un renflement fusiforme (de 3 cm de long en moyenne chez la Poule) dont la muqueuse est très riche en glandes à mucus. La paroi interne ; très épaisse, est formée de lobules dont chacun constitue une glande composée radialement à l'axe de l'organe. La paroi du ventricule des carnivores et des piscivores est moins épaisse et plus riche en fibres musculaires et élastiques. Elle est alors très extensible. Le transit des aliments ne dure que quelques minutes dans le pro ventricule (**Alamargot, 1982 ; Beghoul, 2006**).

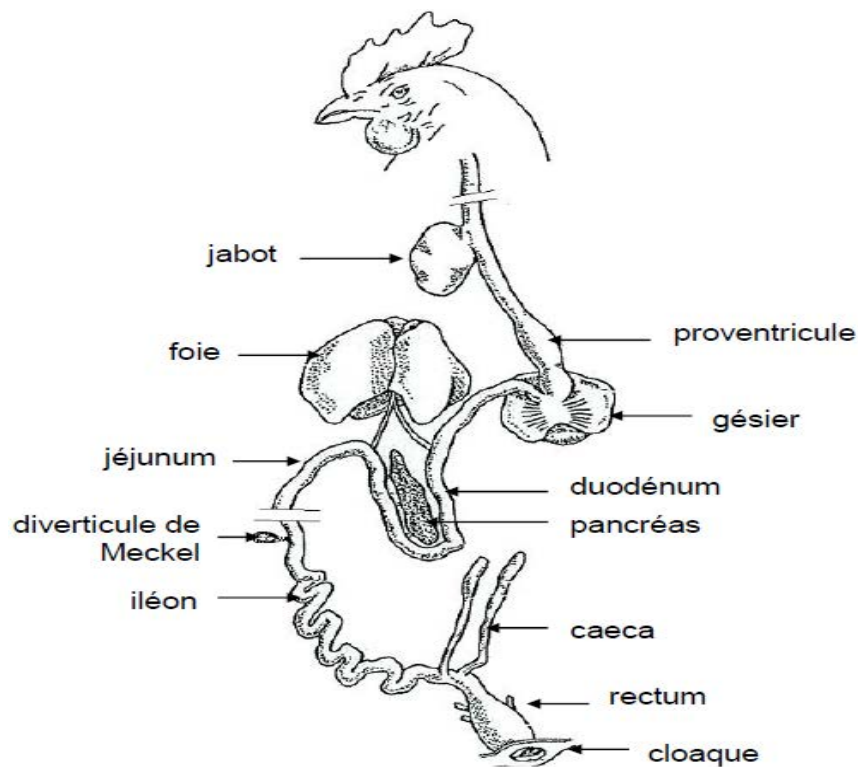


Figure 5: Appareil digestif du poulet (Gadoud et al., 1992).

2.4.5. Le gésier

Le gésier est l'organe compact le plus volumineux de la poule (6 à 8 cm de long, avec un poids d'environ 50 gr vide et 100 gr plein. Il gésier est toujours beaucoup plus caudal qu'on ne se l'imagine ; il est facilement palpable au travers de la paroi abdominale, sa cavité est sacculaire. Il est très musculé chez les granivores (la Poule) et chez les herbivores (l'Oie). Le gésier est rattaché au sternum et à la paroi abdominale par le ligament ventral ou mésentère ventral, au foie par le ligament gastrohépatique et à la paroi dorsale de l'abdomen par le mésogaster (Alamargot, 1982; Beghoul, 2006).

2.4.6. Le duodénum

Le duodénum est la portion de l'intestin qui fait suite l'estomac. Il débute au pylore puis forme une grande anse qui enserre le pancréas. Cette anse est la partie la plus ventrale de l'intestin dans la cavité abdominale. Elle contourne caudalement le gésier et dorsalement elle est en rapport avec les caecums. Le duodénum reçoit deux ou trois canaux pancréatiques et deux canaux biliaires au niveau d'une même papille.

L'emplacement de cette papille marque la fin du duodénum et le début de l'iléon (Alamargot, 1982; Villate, 2001).

2.4.7. Le jéjunum

Le mot jéjunum dérive du mot latin qui signifie «vide». Il est divisé en deux parties ; l'une proximale qui est la plus importante : tractus du Meckel. Petit nodule, est parfois visible sur le bord concave de ses courbures et l'autre distale qui s'appelle l'anse supra duodénale (Alamargot, 1982; Villate, 2001).

2.4.8. L'iléon

Il est court et rectiligne, son diamètre et sa longueur sont variables en fonction des espèces (Alamargot, 1982; Villate, 2001).

2.4.9. Le caecum

Un caecum se présente comme un sac qui débouche dans le tube intestinal à la jonction de l'iléon et du rectum au niveau d'une valvule iléocæcale. Lorsqu'ils existent, ils sont toujours pairs, ils sont accolés à la parie terminale de l'iléon par un méso. Ils sont en rapport ventralement avec l'anse duodénale et dorsalement avec la portion moyenne de l'iléon. Bien développés chez la Poule, ils sont petits chez le Canard et l'Oie. Absents chez les perroquets, les rapaces diurnes, et les pigeons (Alamargot, 1982; Villate, 2001).

2.4.10. Le rectum

Le rectum fait suite à l'iléon et débouche dans le cloaque. Le diamètre du rectum est à peine plus grand que celui de l'iléon. A l'inverse des mammifères, le rectum des oiseaux présente des villosités. Le rectum réabsorbe l'eau de son contenu (fèces et urines), ces fonctions lui ont valu parfois le nom de colo rectum (Alamargot, 1982).

2.4.11. Le cloaque

Le cloaque est composé de trois chambres, en allant de la partie antérieure vers la partie postérieure, le coprodeum, l'urodeum et le proctodeum. Ces deux compartiments ont un rôle important dans la réabsorption d'eau (Denbow, 1999).

2.4.12. Les glandes annexes

a. Le pancréas

Le pancréas est une glande amphicrine (endocrine et exocrine), compacte, blanchâtre ou rougeâtre, enserrée dans l'anse duodénale. Le pancréas est issu de trois ébauches séparées qui se constituent en deux lobes (un lobe ventral et un lobe dorsal). Le suc pancréatique se déverse dans le duodénum par deux ou trois canaux qui s'abouchent au même niveau que les canaux hépatiques (Alamargot, 1982).

b. Le foie

Le foie est un organe volumineux rouge sombre. C'est la glande la plus massive de tous les viscères (33 g environ chez la poule). Le foie repose sur le sternum, il est séparé des parois thorco-abdominales par les sacs aériens. Le foie est constitué de deux lobes réunis par un isthme transversal qui renferme partiellement la veine cave caudale. Le lobe gauche plus petit que le lobe droit, il est généralement marqué d'un sillon longitudinal qui délimite le lobe accessoire du lobe gauche. Les deux lobes déversent la bile, par deux conduits séparés. Le canal du lobe gauche (canal hépatique gauche) s'abouche directement dans l'intestin. Le canal du lobe droit (canal hépatique droit) se renfle d'abord en vésicule biliaire (sauf chez le Pigeon, certains Perroquets et l'Autriche) avant de se jeter dans le duodénum. Il porte le nom de canal cholédoque (**Alamargot, 1982**).

2.5. La microflore digestive des volailles

Selon la définition d'Isolauri et ses collaborateurs (2001), le microbiote intestinal normal est un consortium complexe et en équilibre de microorganismes qui habitent normalement le tractus gastro-intestinal et qui remplissent un rôle dans la nutrition, la physiologie et le fonctionnement du système immunitaire de l'hôte. La composition de ce microbiote intestinal est en équilibre relativement stable dans le tube digestif (**Isolauri et al., 2001**).

Chez les oiseaux, la flore intestinale du jabot à l'intestin est composée principalement de *Lactobacillus* et d'entérobactéries, alors que les caecums hébergent surtout des anaérobies strictes (**Schrezenmeir and DeVrese, 2001; Lan et al., 2002**).

Elle varie en fonction de l'âge, de l'animal, de son environnement, du stress et de l'alimentation. Elle entraîne des changements de la structure et du fonctionnement du tube digestif. Elle entraîne des modifications de la digestion des aliments, ainsi qu'une augmentation des besoins énergétiques. La flore indigène a des conséquences sur la santé de l'animal du fait de la production de différents métabolites (**Fuller, 1989**).

La microflore bactérienne digestive peut être divisée en trois groupes distincts : (**Larbier and Leclercq, 1994; Villate, 2001; Lu et al., 2003; Gabriel et al., 2005**).

- une flore dominante (plus de 10^7 germes/g) composée d'espèces anaérobies strictes et spécifique de l'espèce aviaire : lactobacilles, entérobactéries.
- une flore sous dominante (10^5 à 10^7 germes/g) composée de streptocoques et d'entérobactéries moins spécifique de l'espèce.
- une flore transitoire (moins de 10^5 germes/g) sont aussi souvent anaérobies strictes.

2.6. Répartition de la flore intestinale du poulet

- Chez le poulet de chair, les deux sites principaux d'activité bactérienne sont le jabot et les caeca. Globalement, la flore du jabot à l'iléon terminal est composée principalement d'anaérobies facultatives alors que les caeca contiennent en plus des anaérobies strictes, ces derniers étant dominants (**Fuller, 1984**).
- La flore bactérienne de l'iléum se compose principalement par les aéro-anaérobies facultatives : les coliformes, les entérocoques et les lactobacilles. L'étude réalisée par Lu et ses collaborateurs (2003) sur la diversité de la microflore iléale des poulets de chair révèle que les lactobacilles et les entérobactéries représentent 70% de la flore.
- Le caecum est une importante zone d'activités microbiennes dans le tractus gastro-intestinal de poulets (**Erener et al., 2010**). Il contient une population stable de nombreuses espèces bactériennes (**Barnes, 1982; Fuller, 1989**).

3. Les microorganismes commensaux et pathogènes

3.1. Les bactéries

Une bactérie est un organisme vivant unicellulaire procaryote (caractérisé par une absence de noyau et d'organite).

Elles représentent de nombreuses formes : sphérique (coques), allongées ou bâtonnets (bacilles) et des formes plus au moins spiralées.

Les bactéries sont ubiquitaires et sont présentes dans tous les types de biotopes rencontrés sur terre, elles peuvent être isolées du sol, des eaux, de l'air, de la peau et surtout dans les intestins des animaux (**Fredrickson et al., 2004**).

3.1.1. Famille des Entérobactériaceae

Ce sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux. Elle constitue l'une des plus importantes familles de bactéries, autant du point de vue quantitatif (plus d'une quarantaine de genres) que du point de vue qualitatif. Elle regroupe ainsi de nombreux genres, très ubiquitaires se cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composé organiques simples comme source d'énergie à savoir les sucres, acides aminés et les acides organiques, elles sont anaérobies facultatives, bâtonnets, mobiles par cils péritriches ou immobiles (**Leclerc et al., 1995**).

a. Habitat

Elles sont très répandues, certaines ne sont retrouvées que dans l'environnement, en particulier dans les milieux humides. La plupart des genres comportent des espèces pathogènes qui provoquent des troubles dont la gravité varie énormément d'une souche à l'autre.

Certaines sont responsables de maladies des végétaux (phytopathogène) et d'autres pour l'animal mais la plupart des espèces sont commensales, isolées dans l'intestin de l'homme et des animaux, d'où le nom d'entérobactéries (**Fauchère and Avril, 2002**).

b. Les entérobactéries commensales

Elles sont les hôtes de l'homme et des animaux chez lesquels elles résident principalement au niveau de l'intestin. On peut cependant les retrouver dans la cavité buccale, les régions humides de la peau en particulier le périnée, les fosses nasales et les voies génitales féminines dans lesquelles elles peuvent constituer une flore transitaire.

Dans l'intestin, elles représentent une fraction très importante de la flore aérobie de l'intestin. Elles se retrouvent en grand nombre au niveau du côlon (du cæcum au rectum), elles contribuent à la dégradation des résidus alimentaires et à la production de gaz intestinaux ; on parle de flore de fermentation.

L'espèce *Escherichia coli* y joue un rôle prépondérant en raison de sa présence constante et de sa large prédominance sur les autres espèces : elle constituerait 80 % dans la flore aérobie avec une concentration avoisinant les 10^8 E. Coli/g de selles terminales. D'autres espèces ont une présence moins marquée tel que *Proteus* et *Klebsiella* ainsi que *Citrobacter* (**Guentzel, 1996**).

3.1.1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli est l'espèce type du genre *Escherichia*, appelée communément « colibacille » cette espèce qui a fait l'objet d'un très grand nombre d'études constitue le modèle des bacilles à gram négatif aérobies (**Bernard and Alain, 2002**). Cette bactérie était initialement sensible à beaucoup d'antibiotiques, mais l'acquisition de la résistance est fréquente, surtout en milieu hospitalier (**Nauciel and Vildé, 2005**).

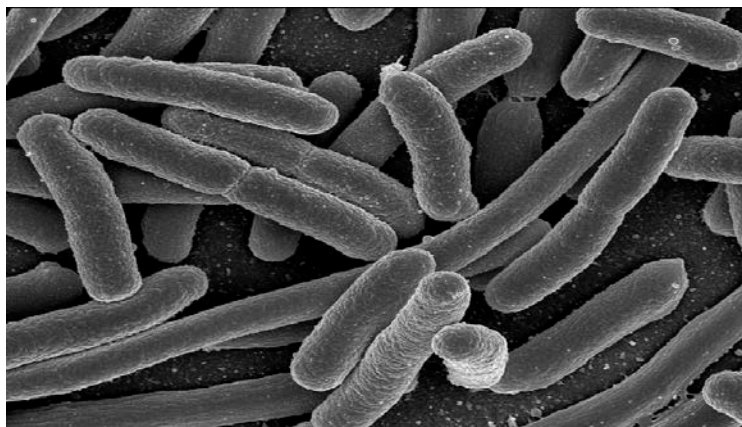


Figure 6 : Observation microscopiques d'E. Coli ($\times 15\ 000$) à microscope électronique à balayage (**Donneberg and Kaper, 1992**).

a. Classification scientifique (Pillet and al., 1986)

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>coli</i>

b. Habitat

C'est une bactérie commensale de l'intestin de l'homme et des animaux représentant l'espèce aérobie quantitativement la plus importante de la flore digestive et de l'appareil digestif des animaux à sang chaud (Nauciel and Vildé, 2005).

Escherichia coli est souvent retrouvé en petit nombre dans les urines saines. C'est une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur, elle ne semble cependant pas pouvoir y mener une vie saprophyte authentique, sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente (Nauciel and Vildé, 2005).

Chez l'homme les colibacilles constituent l'espèce dominante de la flore microbienne aérobie du colon. Ils sont présents également mais à un taux plus faible au niveau de l'intestin grêle. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies (Nauciel and Vildé, 2005).

c. Pouvoir pathogène

Ces germes sont qualifiés à la fois de banals commensaux et d'indiscutables agents pathogènes. Ils peuvent donner lieu à deux types d'infection : Infections extra intestinales et infections intestinales. Ce germe peut être véhiculé dans des sites intestinaux, appareils génitaux et urinaires, cystites, infection, hépatite biliaire ou digestif, nerveuses (méningite à *E. coli*) et de septicémie. Les *E. coli* en cause ont le même pouvoir invasif que *shygella*, ou ils multiplient à l'intérieure des cellules et où ils causent des inflammations avec des diarrhées (syndrome schigellose) sanglantes riches en mucus et leucocytes (Nauciel and Vildé, 2005).

Escherichia coli peut être responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhées d'allure banale, diarrhées sanglante, diarrhées coliforme. Elle peut aussi causer des infections de méningites ou une septicémie (Olin, 2000).

3.1.1.2. *Proteus mirabilis*

Le germe *Proteus* fait partie d'un groupe des bactéries très répandues dans la nature, végétant sur les muqueuses et la peau, appelé en bactériologie (la tribu des protéases).

Les *Proteus mirabilis* sont des germes commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. Elles sont caractérisées par leur extrême mobilité et leur polymorphisme du a la présence sur les bacilles de nombreux flagelles longs et courts, c'est sur la base de ce polymorphisme que le nom *Proteus* leur été attribué et qui vient du mot grec porté et qui signifie (changer de forme a volante) (Le Minore, 1993).

a. Classification scientifique (Le Minore, 1993).

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Proteus</i>
Espèce	<i>mirabilis</i>

b. Habitat

Les *Proteus* sont très répandus dans la nature, on les rencontre dans les eaux de surface, les eaux usées, le sol et dans la flore de purification des matières organiques animales. Ils sont des hôtes habituels de tubes digestif de l'homme et des animaux surtout (Bonnet et al., 1994).

c. Le pouvoir pathogène

Les *Proteus* sont des bactéries habituellement saprophytes. Elles ont un pouvoir pathogène varié et peuvent se comporter comme des pathogènes opportunistes notamment chez les individus hospitalisé, immunodéprimés, cathétérismes ou présentant des anomalies des vois urinaires (Bonnet et al., 1994).

3.1.1.3. *Enterobacter* sp

Enterobacter est un genre de bactérie appartenant à la classe des Gamma proteobacteria et à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il s'agit d'un bacille à coloration de Gram négatif, chimio-hétérotrophe. L'habitat est l'intestin de l'Homme et des animaux, *Enterobacter* est aussi trouvé dans les selles, les eaux d'égouts, le sol, les produits laitiers. Certaines souches du genre *Enterobacter* peuvent être responsables d'infections nosocomiales (Dublanche, 2009).

a. Habitat :

L'*Enterobacter* est un type de bactérie qui fait partie de la famille des Enterobacteriaceae. C'est un bacille (bactérie de forme allongée) dont l'habitat privilégié est l'intestin humain et surtout celui de l'animal. On en trouve également dans les matières fécales, les eaux usées et les produits laitiers. Il existe plusieurs bactéries du genre *Enterobacter*. Certaines peuvent être à l'origine d'infections urinaires et nosocomiales (infections contractées dans un établissement de santé) comme :

- *Enterobacter aerogenes* est une bactérie commensale du tube digestif. Elle peut être responsable d'infections urinaires et d'infections nosocomiales. Il existe des problèmes de poly résistance aux antibiotiques.
- *Enterobacter cloacae* commensale du tube digestif de l'Homme et des animaux, pouvant être rencontré dans le sol et les eaux d'égouts. Certaines souches peuvent être responsables d'infections nosocomiales (Dublanche, 2009).

b. Classification scientifique :

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Enterobacter</i>
Espèce	<i>sp</i>

c. Pouvoir pathogène

Les souches du genre *Enterobacter* sont souvent responsables d'infections nosocomiales. *E. cloacae* et *E. aerogenes* peuvent être isolés à partir d'infections urinaires ou de plaies (Largo et al., 1973).

c. Les entérobactéries pathogènes

Comme nous l'avons dit, les espèces pathogènes possèdent une grande variabilité dans leur comportement et leur agressivité chez l'hôte elles provoqueront des troubles intestinaux en adhérant sur la muqueuse intestinale puis en traversant la barrière entérocytaire. Les symptômes se caractérisent souvent par des diarrhées importantes suivies d'une déshydratation. On distingue alors un groupe d'entérobactéries pathogènes : L'espèce *Salmonella* (Proietti et al., 2007).

3.1.1.4. *Salmonella sp*

Bacille à coloration de Gram négative, appartenant à la famille des entérobactériaceae et au genre *Salmonella*. La majorité des *Salmonella sp* est mobile grâce à une ciliature péritriche.

Les Salmonelles sont des bactéries mésophiles se développent à des températures comprises entre 5.2°C et 47°C et de manière optimale entre 35 et 37 °C, à des pH compris entre 4.5 et 9 avec une variété en eau (*A_w*) supérieur à 0.93 (Le Minore and Ben Hamida, 1962).

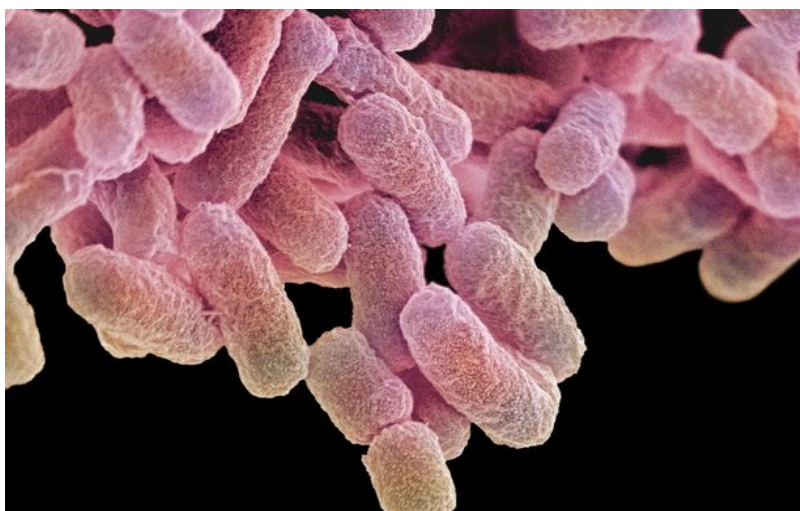


Figure 7 : Observation microscopique de *Salmonella sp* (× 20000) à microscope électronique à balayage (Neff et al., 2006).

a. Classification scientifique

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacterales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Salmonella</i>
Espèce	<i>sp</i>

b. Habitat

La salmonella est bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux, en particulier chez les volailles et les porcs. Elle vit également dans l'environnement.

Les salmonelles peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau, elles se retrouvent donc fréquemment dans les milieux aquatiques pollués, la contamination par les excréments d'animaux porteurs étant très important comme elles se trouvent dans les aliments notamment les viandes et les œufs crus (**Shingleton and Sainsbury**).

c. Pouvoir pathogène

Les salmonelles non typhiques sont l'une des principales causes des syndromes gastro-entériques dans les pays industrialisés sont dus essentiellement à des toxi-infections alimentaires survenant parfois en collectivités.

La contamination humaine se fait le plus souvent par la consommation d'aliments contaminés.

Actuellement, les infections sont principalement dues à quelques sérovars dont *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Typhi* et *Salmonella Gallinarum* chez le poulet surtout mais la majorité des 2400 sérovars doivent selon la définition de l'OMS être considérées comme potentiellement pathogènes (**Anon, 2000**).

3.1.2. La famille des listeriaceae

3.1.2.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria est un genre bactérien, qui compte 10 espèces, dont la *listeria monocytogenes*, seul pathogène pour les humains et les animaux où il provoque la listériose (l'une des zoonoses les plus graves).

Les bactéries du genre *Listeria* sont des petits *bacilles* à *Gram positif*, à extrémités arrondies, asporulés, non acido-alcoolrésistant, mobiles à 20-25°C. Il existe 7 espèces, mais seule l'espèce *Listeria monocytogenes* joue un rôle en pathologie humaine et vétérinaire.

Les *Listeria*, nommées d'après Joseph Lister, qui les a découvertes, sont des bacilles de petite taille, mobiles à 20 °C (grâce à des flagelles), gram positif. Toutes les espèces sont catalases positives, non sporulées, et anaérobies facultatifs. Ce sont des bactéries ubiquistes qu'on trouve presque partout (**Ryser and Marth, 2010**).



Figure 8 : Observation microscopique de *Listeria monocytogenes* à microscope électronique à balayage (× 20000) (Ryser and Marth, 2010).

a. Classification scientifique

Règne	Bacteria
Embranchement	Fimicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Listeriaceae
Genre	<i>Listeria</i>
Espèce	<i>monocytogene</i>

b. Habitat

La bactérie peut être hébergée dans le tube digestif de certains mammifères, y compris celui de l'homme, qui peuvent être porteurs sains de la bactérie (Goulet et al., 2008).

c. Pouvoir pathogène

La seule espèce de *listeria* qui soit pathogène pour l'homme et l'animal est *L. monocytogenes*, qui cause la listériose. Elle peut traverser la barrière intestinale et la barrière placentaire, pouvant alors provoquer des infections éventuellement mortelles.

L. monocytogenes et exceptionnellement *L. ivanovii* sont pathogènes pour les animaux.

(Goulet et al., 2008).

3.1.3. La famille des Micrococcaceae

Il s'agit d'une famille très ancienne puisque les germes qui composent furent décrits par Pasteur à la fin du 19^e siècle. Depuis, la famille a subi des remaniements et actuellement elle compte les genres (Theiry, 1997).

3.1.3.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre staphylococcus, elle occupe une place très importante dans la pathologie infectieuse humaine et animale, responsable d'intoxication alimentaire, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques, elle se présente comme une coque en amas (grappe de raisin), gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom (Nauciel and vildé, 2005).

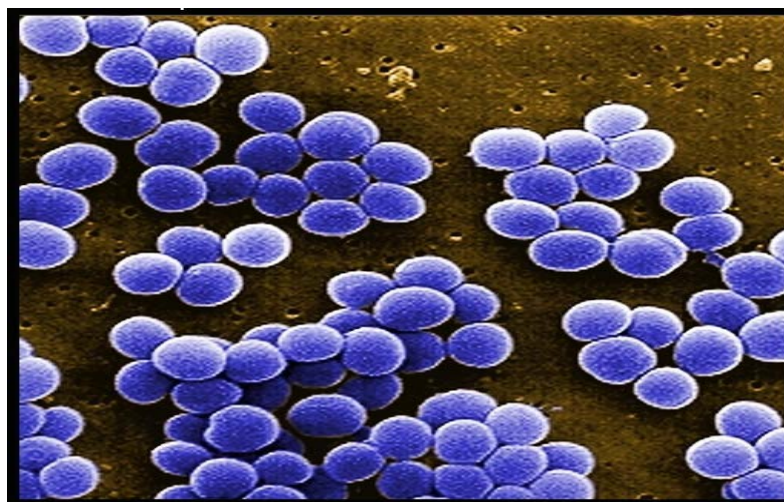


Figure 9 : Observation microscopique de *S.aureus* à microscope électronique à balayage ($\times 20000$) (Bohn et al., 2010).

a. Classification scientifique (Systema and J.C, 2001).

Règne	Bacteria
Embranchement	Fimicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>aureus</i>

b. Habitat

L'espèce *S .aureus* est commensale de l'homme et se révèle être pathogène opportuniste dans certains emplacement ou dans certaines circonstances (Fauchère and Avril, 2002).

C'est un germe :

- **Ubiquitaire** : Elle possède une bonne résistance aux mécanismes d'épuration naturels.
- **Commensal** : Elle est retrouvée chez 15 à 30% des individus sains au niveau des fosses nasales et de la gorge, aussi retrouvée en faible quantité dans le tube digestif et souvent au niveau du périnée.
- **Pathogène** : Elle possède des pouvoirs pathogènes, notamment un pouvoir invasif, capacité à se multiplier et à se disséminer dans l'organisme et un pouvoir toxique, capacité d'élaboration d'une toxine par la bactérie qui exerce à la fois des propriétés toxiques et antigéniques chez l'hôte (**Bohn et al., 2010**).

Elle est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme environ un tiers des sujets sont porteurs sains, ils hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et les zones cutanées humides (périnée, aisselles) (**Nauciel and Vildé, 2005**).

c. Pouvoir pathogène

Son pouvoir pathogène résulte de plusieurs sécrétions :

- **Des enzymes** : coagulase, fibrinolysine, phosphatase, hyaluronidase, désoxyribonucléase, protéase qui du fait des lésions qu'elles provoquent sur les barrières de l'organisme, lui confèrent son pouvoir invasif.
- **Des toxines** : entérotoxines (chez certaines souches), staphylolysines et leucocidines lui confèrent son pouvoir toxique (**Bohn et al., 2010**).

Elle peut causer des :

- **Lésions suppurées** : les plus fréquentes sont cutanées et sous cutanées : folliculite, furoncle, anthrax, impétigo bulbeux, panaipe, surinfection des plaies traumatiques ou post-opératoires.

Elle est aussi responsable de mastites chez les femmes qui allaitent des atteintes pulmonaires peuvent s'observer notamment chez les nourrissons et chez les malades sous ventilation assistée.

- **Septicémie et endocardites** : les lésions peuvent se compliquer de septicémie une forme particulière est la staphylococcie maligne de la face. Elle a pour origine un furoncle de la lèvre ou de la narine qui se complique d'une thrombophlébite suppurée. En milieu hospitalier, les septicémies à *Staphylococcus* représentent une portion importante des septicémies d'origine nosocomiales (**Nauciel and Vildé, 2005**).

3.1.4. La famille des Pseudomonadaceae

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines. De nombreuses souches pouvant se développer à de basses températures contaminant les denrées alimentaires ou produits pharmaceutiques conservés au réfrigérateur.

On peut occasionnellement les isoler de la flore intestinale de l'homme ou de l'animal mais leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier. Ils se comportent comme des pathogènes opportunistes souvent à l'origine d'infection nosocomiales (Avrite et al., 1992).

3.1.4.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles à gram négatif mobiles par cils polaires ou immobiles (a ciliature), sporulés et non capsulés, aérobies strictes, se cultivent facilement sur les milieux usuels, *P. aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ces colonies (Nauciel and Vildé, 2005).

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce la plus fréquemment isolée en bactériologie médicale, parfois commensal du tube digestif. Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont caractérisées par leur résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques, elles accumulent parfois les métaux et ce sont des producteurs de pigments (Buagnicont, 1995). Elle est à l'origine de 10% des infections hospitalières (Regnault, 2000).



Figure 10 : Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* à microscope électronique à balayage (× 20000) (Pillet et al., 1986).

a. Classification scientifique (Pillet et al., 1986).

Règne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>aeruginosa</i>

b. Habitat

Germe ubiquitaire, vivant dans les sols et en milieu humide, très résistant à de nombreux antiseptique, fréquent en milieu hospitalier, entraînant l'apparition de véritables souches d'hôpital. Elle peut survivre dans de l'eau distillée ou salée, voire se développer dans certaines solutions antiseptiques ou antibiotiques (Pillet et al., 1986).

C'est une bactérie saprophyte de l'air, de l'eau et du sol. Commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux. On le trouve aussi dans le tube digestif de l'homme et rarement dans la salive (Fauchère and avril, 2002)

c. Pouvoir pathogène

Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infections de l'œil, des plaies, des urines, gastro-intestinales et des poumons, des méningites d'inoculation, des septicémies comme stade terminal d'infections graves ou complication chez des malades soumis à un traitement immunodépresseur, des leucémiques, etc.

Elle induit facilement des infections systémiques chez les immunodéprimés et chez les victimes de brûlures et de fibrose kystique (Nauciel and Vildé, 2005).

La bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets immunodéprimés. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (en particulier chez les sujets atteints de mucoviscidose), pulmonaires, oculaires, ostéo-articulaires. Elle peut aussi infecter des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques ou post-opératoires, provoquer des otites externes (pouvant évoluer d'une manière invasive chez les sujets âgés et les diabétiques), des septicémies, des endocardites (Nauciel and Vildé, 2005).

Pour les infections urinaires, les bacilles pyocyaniques représentent la troisième cause de telles infections après *E. coli* et les streptocoques (Loup, 1997).

3.2. Les parasites

Les parasites sont des êtres vivants qui puisent les substances qui lui sont nécessaire dans ou sur l'organisme dans autre appelé hôte. Ce sont des petits intrus qui vivent sur la peau ou bien dans le corps et qui peuvent le rendre maladie.

3.2.1. La coccidiose aviaire

La coccidiose est une maladie parasitaire infectieuse, transmissible, contagieuse. Cette protozoose digestive est due à la multiplication dans les cellules de la muqueuse de l'intestin grêle ou des caecums, de coccidies pathogènes spécifiques de la famille des Eimeriidés.

Les coccidioses sont caractérisées cliniquement par des formes variées : les formes graves se traduisent par des troubles digestifs (diarrhées hémorragiques le plus souvent mortelles), mais il existe également des formes sub-cliniques qui se traduisent par des baisses de production et ont une incidence plus économique que médicale (**Chermette and Bussiera, 1992**).

Une infection par les coccidies est dite coccidiose lorsqu'elle ne provoque pas de manifestations cliniques apparentes de la maladie contrairement à la coccidiose (**Conway and McKenzie, 2007**).

3.2.1.1. Classification

Règne	Protiste
Embranchement	Protozoa
Sous-embranchement	Apicomplexa
Classe	Sporozoasida
Sous-classe	Coccidiasina
Ordre	Eucoccidiorina
Sous-ordre	Eimeriorina
Famille	Eimeriidae
Genre	<i>Eimeria</i>

On distingue chez la poule neuf espèces de coccidies qui montrent une grande variation dans leur pathogénie (**Euzeby, 1987; Duszynski et al., 2000; Réperant, 2001; Azzag, 2001**), dont cinq sont jugées d'une importance majeure : *Eimeria tenella*, *E.acervulina*, *E.necatrix*, *E. brunetti*, et *E. maxima*. Et deux sont moins importantes :

E. mitis, *E. praecox* (VLI, 2001; Conway and McKenzie, 2007). De plus, deux autres espèces sont mentionnées dans la littérature : *E. hagani* et *E. mivati* qui restent d'une validité douteuse.

Des études supplémentaires doivent être approfondies sur l'importance des deux espèces (Conway and Mckenzie, 2007). Ces différentes coccidies peuvent être identifiées en fonction de leur localisation intestinale, des lésions induites et de la taille de leurs oocystes. D'autres paramètres comme la durée de sporulation et la forme des oocystes (ovoïde, ellipsoïde, subsphérique ou circulaire) peuvent aider à la détermination des espèces.

De nouvelles méthodes immunologiques et moléculaires sont désormais utilisées pour la différenciation des espèces (Morris and Gasser, 2006; Haug et al., 2007; Morgan et al., 2009). La détermination de leurs proportions au niveau des élevages devrait permettre de mieux appréhender le risque de coccidiose (Reperant et al., 2003).

3.2.1.2. Les espèces coccidiennes aviaires

On distingue neuf espèces d'*Eimeria* spécifique du poulet qui sont classées selon leur virulence et leur habitat en (Ruff and Reid, 1977).

a. Pathogènes majeurs

Eimeria tenella : caecum

Eimeria necatrix : partie moyenne de l'intestin grêle.

b. Très pathogènes mais rares

Eimeria brunetti : intestin grêle, caecum et rectum.

c. Moyennement pathogène mais très fréquentes

Eimeria maxima : jéjunum

Eimeria acervulina : Duodénum, 1^{er} tiers du grêle

d. Peu ou pas pathogènes

Eimeria mitis : 1^{ère} moitié du grêle

Eimeria praecox : duodénum

Eimeria hagani : Duodénum

Eimeria mivati : duodénum et grêle

3.2.1.3. Structure et morphologie du parasite

Les coccidies sont des protozoaires unicellulaires ; leurs manifestations vitales se résument par leur métabolisme et leur fonction de reproduction (**Fritzsche and Gerriet., 1965**).

Elles sont dépourvus d'organites périphériques, ne présentent ni pseudopodes ni flagelles ni cils vibratiles et sont ainsi immobiles pendant tout leur développement sauf pour le stade microgamète flagellé ; leur protoplasme ne montre ni vacuoles alimentaires ni vacuoles pulsatiles. Ces microorganismes ont une très grande simplification morphologique et pourtant leur cycle biologique est assez compliqué (**Lamy, 1980**).

Chez le poulet, les différentes espèces *Eimeria* passent pendant le cycle de développement par trois formes morphologiques (**Bouhelier, 2005**).

- La forme extracellulaire statique : l'oocyste.
- Les formes extracellulaires mobiles : les sporozoïtes, les mérozoïtes et les microgamètes.
- Les formes intracellulaires, dans leur vacuole parasitophore : les trophozoïtes, les schizontes, les mérontes, le micro gamonte et la macro gamonte.

a. L'oocyste

a.1. Oocyste non sporulé

La forme libre d'*Eimeria* spp est l'oocyste. L'oocyste non sporulé (figure 11), dans le milieu extérieur, évolue en quelques jours vers la forme sporulée infectante. Il est ovoïde, d'une taille de 23 x 19 µm. Il est incomplètement rempli par une seule cellule globuleuse : le sporonte dont le noyau est peu visible. La paroi oocystale est imperméable et très résistante aux agents chimiques. Elle se compose de 67% de peptides, 14% de lipides et 19% de glucides.

Les protéines sont constituées de répétition de sous-unités d'approximativement 10 kDa, il s'agit de protéines soufrées (**Stotish, 1978; Ming Hsein and Hong-Kein., 2008**).

La réduction de groupe thiol perturbe la superstructure des protéines entraînant l'ouverture du micropyle et donc modifie le caractère d'imperméabilité de l'oocyste sporulé (**Jolley et al., 1976**). Ses composants s'organisent en deux membranes :

- Une enveloppe interne de 10nm d'épaisseur, de nature lipoprotéique, résistante et imperméable aux substances hydrosolubles ;
- Une enveloppe externe, lisse, de 90nm d'épaisseur, de nature glycoprotéique, assez fragile. Elle est limitée par une suture linéaire, qui n'a pas été documentée jusqu'ici, et qui semble joue un rôle dans le processus infectieux (**Mouafo et al., 2000**).



Figure 11 : Oocystes non sporulés observés sous microscope optique (x40) (Mouafo et al., 2000).

a.2. L'oocyste sporulé

L'oocyste sporulé d'*Eimeria* (figure 12) contient quatre sporocystes (le sporocyste étant une seconde enveloppe de protection) contenant chacun deux sporozoïtes (les éléments invasifs). Le sporocyste peut présenter un léger renflement au niveau de sa partie apicale : c'est le corps de Stieda. Un globule réfringent est parfois présent dans la partie apicale de l'oocyste.

Des corps résiduels peuvent être présents dans l'oocyste et dans les sporocystes. Ils contiennent des granules d'amylopectine et une vacuole lipidique (Bouhelier, 2005).

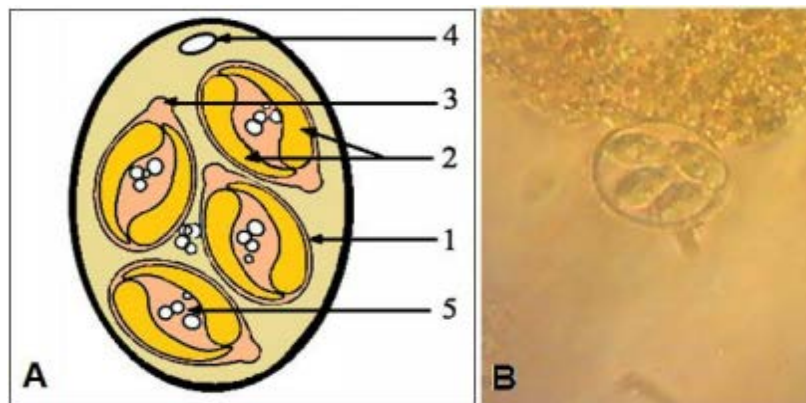


Figure 12 : **A** : Représentation d'un oocyste sporulé (Bouhelier, 2005). (1) Sporocyste - (2) Deux sporozoïtes - (3) Corps de Stieda - (4) Globule réfringent - (5) Corps résiduels. **B** : Image d'un oocyste sporulé (contenant quatre sporocystes) observé sous microscope optique (grossissement x40).

3.2.1.4. Cycle de développement de l'espèce *Eimeria*

Le cycle des coccidies est identique quelle que soit l'espèce considérée ; il comprend deux phases, l'une exogène et l'autre endogène à l'hôte ; les volailles se contaminent

directement sans la nécessité d'un hôte intermédiaire vecteur : c'est donc un cycle diphasique monoxène direct (Villate, 1997; Banfield and Forbes, 1999).

Les coccidies passent par deux phases de développement, commençant et se terminant par l'oocyste coccidien : La phase exogène : elle correspond à la maturation de l'oocyste émis dans les fientes des sujets parasités, c'est la sporulation ou sporogonie.

La phase endogène : elle débute par l'ingestion de l'oocyste infestant puis libération et pénétration des sporozoïtes dans les cellules épithéliales intestinales ; ils se divisent de façons répétées suivant un processus de reproduction asexuée massive (schizogonie) suivie d'une gamogonie avec formation des gamètes mâles et femelles, dont la fécondation donne naissance à l'oocyste immature, et le cycle s'achèvera avec la sporulation de l'oocyste immature durant la phase exogène (Kennedy, 1996; Villate, 2001).

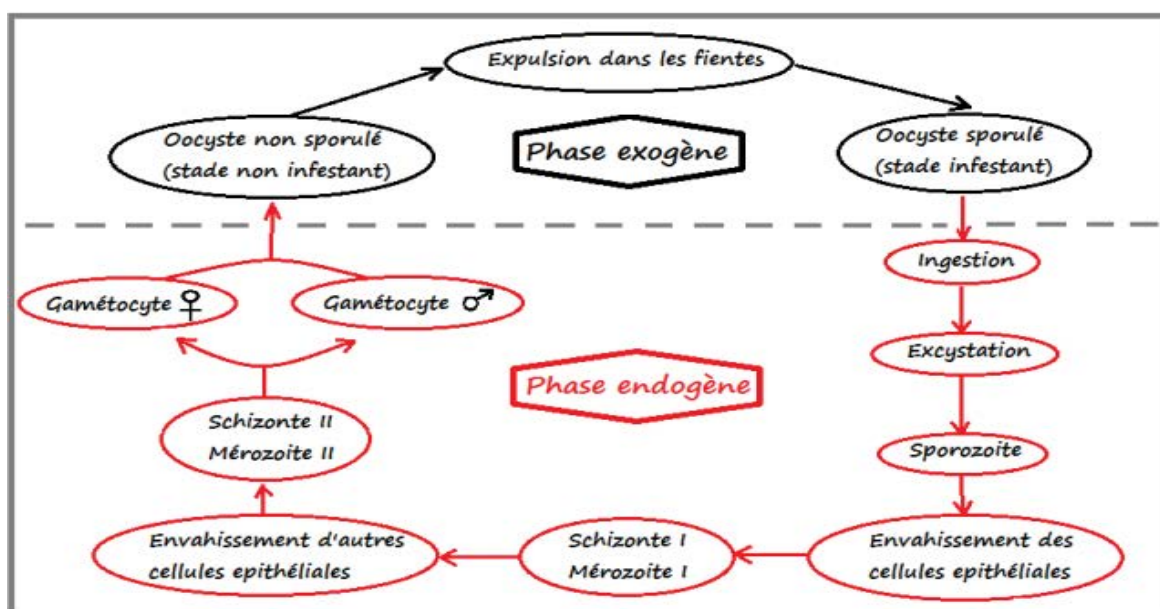


Figure 13 : Schéma général du cycle évolutif de l'espèce *Eimeria* (Kennedy, 1996; Villate, 2001).

3.2.1.5. Epidémiologie descriptive

La coccidiose est surtout décrite comme étant une maladie de l'élevage intensif, car il a été démontré que la réponse au parasitisme est plus importante dans les élevages à forte densité où la relation hôte-parasite est facilement déséquilibrée.

De même les conditions d'ambiances de ces élevages sont stables et régulières ce qui a fait perdre aux coccidioses leur caractère saisonnier, car c'est une maladie estivale en élevage fermier, mais en général elle apparaît à chaque moment où température et humidité favorables se réunissent (**Bussieras and Chenette, 1992**).

A savoir aussi que ces mêmes conditions d'élevage favorisent le caractère endémique des coccidioses, il est pratiquement inévitable d'avoir des élevages indemnes de coccidies. Cependant une bonne maîtrise des conditions d'ambiance, une bonne alimentation et un bon suivi sanitaire améliorent la lutte anticoccidienne (**Eckman, 1995**).

3.2.1.6. Répartition géographique

La coccidiose sévit dans tous les pays d'élevage, et aucun cheptel n'est indemne. Autrefois on la trouvait essentiellement dans les pays chauds et humides, où les facteurs climatiques favorisent l'évolution et la survie des parasites.

Aujourd'hui l'épidémiologie a changé et la coccidiose se reprend dans les zones froides et sèches grâce au microclimat créé par l'élevage industriel (**Mekalti, 2003**).

On trouvera donc deux types épidémiologiques correspondant aux deux grands types d'élevage avicole :

- Dans les élevages fermiers, en alimentation traditionnelle, c'est une maladie surtout estivale frappant les jeunes poulets âgés de quelques semaines.
- Dans les élevages industriels, recevant des aliments coccidiosatiques, elle se développe surtout au stade de finition.

3.2.1.7. Espèces affectées

Les coccidioses du genre *Eimeria* sont étroitement spécifiques ; la coccidiose de la poule ne touche donc que cette espèce (**Euzeby, 1973**).

Les coccidies ne sont pathogènes que pour des individus appartenant à des espèces animales bien déterminées, en fonction de telle ou telle espèce de parasites. Les oocystes sporulés ingérés par des animaux qui ne sont pas leurs hôtes habituels, sont éliminés sans avoir subi d'altération et demeurent aptes à assurer l'infection d'un hôte sensible (**Conway and McKenzie, 2007**).

Toute la volaille est réceptive aux coccidies mais il existe une différence fondamentale dans la sensibilité qui est variable en fonction de : (**Mekalti, 2003; Boka, 2006**).

- la souche de volaille.
- l'âge des sujets : les sujets âgés de 10 à 60 jours sont plus sensibles.
- l'état général : les sujets atteints de la maladie de Gumboro font une maladie plus grave.
- l'espèce de coccidie : *E. tenella* provoque une maladie plus sévère.
- le degré d'infestation.

3.2.1.8. Manifestation cliniques

Suivant les espèces de coccidies en cause et la localisation des lésions on peut distinguer deux types de coccidioses :

a. Coccidiose caecale

Due à *E. tenella*. Il faut noter cependant qu'*E. necatrix* au stade gamétocyte a également une localisation caecale alors que les formes pathogènes déterminent une coccidiose intestinale. Les cecas ne jouent pas de rôle majeur dans la fonction digestive, cette coccidiose n'a d'importance que lors de maladie clinique.

Cette forme de coccidiose affecte classiquement les poulets de 20-28 jours ; les symptômes apparaissent le 3^{ème} jour suivant l'infection, et révèlent soit (**Conway and McKenzie, 2007**).

a.1. Une forme suraigüe

Elle évolue avec des symptômes nerveux et entraîne la mort avant même l'apparition des symptômes digestifs ; aujourd'hui rare, du fait de l'utilisation d'une chimio-prophylaxie efficace (**Euzeby, 1987**).

a.2. Une forme aiguë

Les poulets répugnent à se déplacer et se rassemblent dans les parties chaudes du local. Ils présentent de l'abattement, tristesse, et hérissément des plumes avec ailes pendantes. Au 4^{ème} jour se manifestent des hémorragies, avec de sang en nature dans les fèces.

Au 5^{ème}/6^{ème} jour on observe un syndrome dysentérique : diarrhée importante hémorragique, émise avec ténesme et épreinte, et bientôt réduite à un crachat cloacal ; à ce moment, les malades sont anorexiques mais conservent une soif très vive.

Sous cette forme, l'évolution est rapide et la mort est très fréquente (80% des malades). On peut observer des phénomènes convulsifs, et ce n'est qu'après le 7^{ème} jour suivant l'infection qu'on peut mettre en évidence des oocystes dans les fèces. Si la mort ne survient pas on peut observer vers le 15^{ème} jour l'expulsion d'un magma caséux, constitué de débris épithéliaux et renfermant des oocystes (**Gordon, 1979; Bussieras and Chenette, 1992; Kennedy, 1996**).

a.3. Une forme atténuée

Avec diarrhée jaunâtre ou marron foncé mais sans hémorragie. L'état général se dégrade : amaigrissement, hyporexie, troubles locomoteurs, et retard de croissance.

Dans cette forme, les oocystes apparaissent le 7^{ème} jour dans les fèces et la maladie dure environ 15 jours.

Elle peut passer à la forme aiguë, mais généralement, elle est suivie de guérison totale et sans séquelles nutritionnelles graves, d'autant plus que les caecums n'interviennent ni dans la digestion ni l'absorption, particulièrement si cette forme touche les poulets durant la première moitié de leur vie où ils peuvent entreprendre une croissance compensatrice durant la seconde moitié (Mekalti, 2003).

b. Coccidiose intestinale

A part *E.tenella*, toutes les autres coccidies interviennent dans l'étiologie de cette coccidiose. Selon les coccidies en cause et selon l'importance des infections contractées, on considère trois formes de coccidiose intestinale sachant que la pathogénicité de ces parasites est très inégale (Mekalti, 2003).

b.1. Forme aiguë

Due essentiellement à *E. necatrix* puis à *E. brunetti* à des doses infectantes plus importantes. Les sujets touchés sont plus âgés que ceux atteints par la coccidiose caecale, car les coccidies en cause sont relativement peu prolifiques et la contamination du milieu est plus lente ; c'est au-delà de la 4^{ème} semaine que les poulets d'engraissement sont atteints par *E. necatrix*, et encore plus tard avec *E. brunetti* (en fin d'élevage) (Gordon, 1979; Conway and McKenzie, 2007).

Les symptômes apparaissent environ le 3^{ème} jour après l'infestation par *E. brunetti* et vers le 5^{ème}/ 6^{ème} jour pour *E. necatrix*. Les poulets présentent de l'anorexie, une diarrhée mousseuse parfois hémorragique et renfermant du sang digéré en cas d'infection par *E. necatrix* ; peu hémorragique avec *E. brunetti* parfois avec émission de fèces souillées de sang en nature d'origine rectale.

Mais un syndrome dysentérique n'évolue jamais, tel qu'on le connaît dans la coccidiose caecale. Dans les formes sévères, la mort survie en quelque jours particulièrement avec *E. necatrix*, et les survivants sont très amaigris, en mauvais état général et la convalescence est très longue (Euzby, 1979; Conway and McKenzie, 2007).

b.2. Forme atténuée

Déterminée par les espèces précédentes lors d'infection légères et par la plupart des autres espèces, essentiellement par *E. acervulina*, *E. maxima* et *E. mitis*. Sous cette forme les coccidioses sont très discrètes laissant apparaître une diarrhée aqueuse rebelle à la thérapie usuelle ; les sujets présentent de la déshydratation et de l'amaigrissement ; à la longue l'anémie s'installe et la convalescence est très longue et le cheptel atteint ne récupère que lentement ce qui est très grave pour les poulets d'engraissement (**Mekalti, 2003**).

b.3. Forme subclinique

Due aux espèces précédemment citées dans la forme atténuée lors d'infection légère et à *E. praecox*. On retrouve cette forme chez les sujets :

- Ne recevant pas de coccidiostatiques ou lorsque celui-ci se trouve en quantité insuffisante dans l'aliment (phénomène souvent observé du au mauvais mélange de l'anticoccidien).
- Ou avec des espèces coccidiennes non sensibles aux coccidiostatiques utilisés.
- Ou lors de chimiorésistance. (**Bussieras and Chenette, 1992**)

La forme subclinique est de loin la plus grave économiquement du fait de son évolution insidieuse, le plus souvent asymptomatique et très discrète. Le développement parasitaire provoque (**Yvoré, 1992**).

- Une perturbation de la fonction digestive (inflammation intestinale avec un ralentissement du transit et des troubles de l'absorption).
- Altère certains métabolismes généraux (synthèse protéique en particulier).
- Une baisse des performances de productivité (avec augmentation de l'indice de conversion) et une hétérogénéité des lots, et un mauvais aspect des carcasses (décolorées).
- Le développement de contaminants pathogènes dans la flore digestive.

La forme subclinique peut évoluer selon deux types : soit par extension rapide en quelques jours à tout l'effectif, soit par une extension lente en trois semaines environ.

Chez le poulet de chair, le retard de croissance est suivi d'une phase de compensation qui prendra environ un mois, c'est la raison pour laquelle les pertes sont maximales durant la deuxième moitié de vie de cheptel. Une infection coccidienne subclinique peut être déterminée et confirmée grâce à l'examen des indices zootechniques (**Suls, 1999**).

3.2.1.9. Les lésions

Durant le cycle évolutif, les différents stades de développement du parasite envahissent un grand nombre de cellules intestinales et les détruisent.

Les lésions engendrées sont relation directe avec le nombre de coccidies qui ont pu accomplir leur cycle évolutif ; elles dépendent non seulement du nombre de cellules détruites mais aussi du type de cellules parasitées. Les plus profondes causent les lésions les plus graves (Suls, 1999).

a. Coccidiose caecale (*Eimeria tenella*)

a.1. Forme aiguë

Il s'agit d'une importante typhlite hémorragique débutant au 4^{ème} jour par des hémorragies en nappe, entraînant à partir du 5^{ème} jour, la formation de caillots de sang dans la lumière caecale ; dès lors, les caeca sont dilatés, prennent une couleur rouge brun qui évoque deux boudins (figure 14) (Euzby, 1987).

A partir du 7^{ème}- 8^{ème} jour, les hémorragies baissent et, en cas de survie, les caeca diminuent de volumes, reprennent une couleur rosée ne renfermant qu'un magma caséonécrotique, fait de cellules épithéliales desquamées, de fibrine et de matières fécales ; ces débris peuvent devenir toxiques. Ces agrégats caecaux se rompent et sont rejetés avec les déjections dès le 8^{ème} jour, avec une évolution vers la guérison (Gordon, 1979; INSA, 1991; Bussieras and chennette, 1992; Kabay, 1996).



Figure 14 : Lésions nécrotiques et hémorragiques dans la coccidiose caecale (Boka, 2006 ; Conway and McKenzie, 2007).

a.2. Forme atténuée

Avec légère typhlite où les hémorragies sont très peu marquées, la réparation de l'épithélium lésé est rapide et complète. Sur le plan histologique, on note une infiltration lymphoïde de la muqueuse. Au début du processus, on note une hypertrophie des cellules parasitées par les schizontes I puis la destruction des cellules infectées par les schizontes II, qui peuvent mesurer jusqu'à 60 μ , avec pertes de substance et nécrose de la paroi des capillaires (Euzeby, 1979).

b. Coccidioses intestinales

Les lésions sont variables selon les espèces en cause et l'importance du parasitisme :

b.1. *Eimeria necatrix*

Affecte la partie moyenne de l'intestin grêle, qui se trouve dilatée et extrêmement ballonnée (lésion post-mortem typique). Elle détermine des formations hémorragiques, pétéchiales ou plus étendues sur une muqueuse œdémateuse et recouverte d'un exsudat mucoïde. Si l'infection est légère, on n'observe que des petites lésions focalisées de 1mm de diamètre, légèrement saillantes, blanchâtres, parfois auréolées d'une ligne hémorragique (renfermant des colonies de schizontes II) (Rand, 1986; INSA, 1991; Kabay, 1996).

On trouve à l'intérieur de la muqueuse du mucus hémorragique, tandis que le caecum est rempli de sang en provenance de l'intestin. Pour différencier *E. necatrix* d'*E. Tenella*, on peut ouvrir le caecum et le laver ; si l'infection est due à *E. tenella*, on trouve de nombreuses zones hémorragiques sur la paroi caecale ; par contre, si l'infection est provoquée par *E. necatrix*, aucune lésion de la paroi ne sera observée (Euzeby, 1987).

b.2. *Eimeria brunetti*

Affecte la partie postérieure de l'intestin grêle et le rectum. Dans les formes sévères, on observe un œdème de la paroi intestinale, des hémorragies sous forme de stries rougeâtres, et de la nécrose de coagulation extensive avec fausses membranes et caséum blanchâtre qui peuvent obstruer la partie proximale du caecum.

Dans les infections modérées, on constate un épaissement de la partie postérieure de l'intestin grêle, du rectum et du cloaque ; on peut voir un exsudat inflammatoire teinté de

sang. Ces lésions renferment des gamétocytes et des oocystes (Mekalti, 2003)

b.3. *Eimeria maxima*

Elle peut affecter la totalité de l'intestin grêle, mais touche surtout, comme *E. necatrix*, la partie moyenne du tractus : avec dilatation, flaccidité et œdème de la paroi, exsudat mucoïde parfois teinté de sang et de pétéchies. Ces lésions sont plus accusées chez les poules que chez les jeunes poulets ; elles renferment des gamétocytes et des oocystes (Mekalti, 2003).

b.4. *Eimeria acervulina* et *Eimeria praecox*

Elles déterminent des lésions dans la partie proximale de l'intestin grêle, ces espèces sont les agents d'entérites mucoïdes dues au développement des gamétocytes et des oocystes (Mekalti, 2003).

b.4.1. *E. acervulina*

Elle affecte la première moitié de l'intestin grêle, où l'on note des taches blanchâtres disposées en ligne sur une paroi intestinale épaissie. Dans les cas graves, on note une importante entérite mucoïde, et ce n'est qu'à ce moment qu'on constate une morbidité et une mortalité.

b.4.2. *E. praecox*

Elle affecte le premier tiers de l'intestin grêle (duodénum) ; il n'y a pratiquement pas de réaction inflammatoire ; les spécialistes s'accordent pour dire qu'il n'y a pas de lésions dues réellement à cette espèce.

b.5. *Eimeria mitis*

Elle affecte la moitié postérieure de l'intestin grêle, et de la cicatrice vitelline au rectum, ne déterminant qu'une banale entérite mucoïde. Sur le plan histologique, on note :

- Une atrophie des villosités intestinales, qui se raccourcissent et s'épaississent, avec perte de cellules épithéliales de surface.

- Une augmentation des cellules calciformes dans les segments non infectés de l'intestin.
- Une infiltration de la muqueuse par des cellules de l'inflammation.
- Une hyperplasie des cellules cryptiques, d'où une hypertrophie des cryptes, qui favorisent encas de survie la réparation de l'épithélium.

On peut mettre en évidence dans les produits de raclages des lésions des schizontes dans le cas d'*E. tenella*, *E. necatrix*, et des gamétocytes et des oocystes dans le cas d'*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. brunetti*, et *E. mitis*. (Mekalti, 2003).

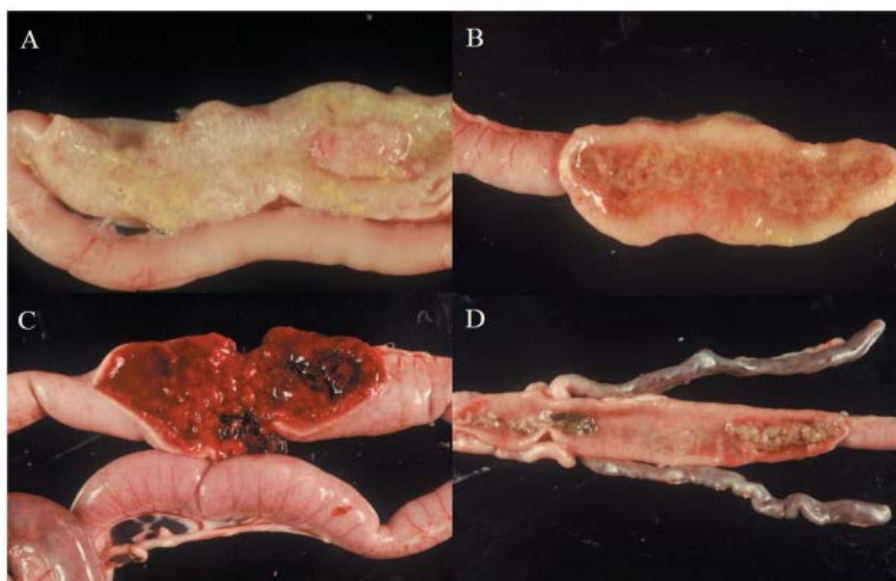


Figure 15 : Lésions caractéristiques de la coccidiose intestinale engendrées par **A.** *Eimeria acervulina* ; **B.** *E. maxima* ; **C.** *E. necatrix* ; **D.** *E. Brunetti* (Conway and McKenzie, 2007).

3.2.1.10. Prophylaxie

En production avicole, il n'est pas nécessaire, ni possible d'éliminer radicalement la coccidiose des élevages, mais simplement essayer d'en réduire les conséquences et la rendre supportable afin qu'elle n'affecte pas la production, et diminuer les pertes économiques qu'elle engendre.

a. Prophylaxie sanitaire

Il faudra éviter l'accumulation des déjections et leur contact avec les animaux, et limiter le contact entre les volailles et les fientes, donc le parasitisme (Baltazart, 2010). Lorsque l'élevage se fait sur sol, il faudra une litière d'une épaisseur convenable. Ainsi les fientes s'enfuissent facilement. De plus, il est déconseillé de la brasser en cours d'élevage car cela rend accessible des oocystes infectants qui ont sporulé (Meklati, 2003).

Le bâtiment d'élevage doit être conçu selon les normes, favorisant une bonne ventilation et d'éviter l'ensoleillement. Il faudra aussi éviter les terrains humides et choisir un endroit abrité des vents et d'accès facile (**Mekalti, 2003**).

Les abreuvoirs et les mangeoires ne doivent pas être souillés (**Van Eekeren, 2006**).

Limiter les contaminations extérieures est aussi un point clé pour éviter la contamination par la coccidiose. Des bottes ou des sur-bottes spécifiques à chaque bâtiment sont un moyen de limiter l'apport de coccidies depuis le milieu extérieur (**Magdelaine and Chesnel, 2002**).

Il faut éviter toute contamination par les véhicules pendant livraison et distribution d'aliment, ramassage des animaux...etc. L'accès des bâtiments doit être limité au strict nécessaire (**Boka, 2006; Van Eekeren, 2006**).

Enfin le vide sanitaire et la désinfection complète du milieu entre deux bandes est indispensable. Tout le matériel d'élevage doit être démonté, sorti du bâtiment, et désinfectés (**Baltazart, 2010**). La litière doit être complètement enlevée et renouvelé (**Mirabito, 2004**), ainsi les murs et le sol doit être lavé avec une bonne évacuation des eaux usées permet d'éliminer la plupart des oocystes. Le respect d'un vide sanitaire donc permet de sécher le bâtiment. Les coccidies sont sensibles à la dessiccation (**Williams et al., 1996**).

b. Prophylaxie médicale

Les anticoccidiens, capable d'inhiber le développement du parasite ou de le détruire sont aujourd'hui la principale méthode de lutte. Administrer aux animaux incorporés dans l'aliment pendant toute la durée de l'élevage (**Vercruyse, 1995**).

La chimio-prévention et la vaccination sont des mesures de prévention qui n'empêchent pas toujours l'apparition, le développement et la propagation de la maladie dans les élevages intensifs. Il faut alors envisager d'autres moyens efficaces.

Les traitements par médicaments curatifs doivent être mis en œuvre dès l'apparition des premiers signes clinique de coccidiose.

Les médicaments doivent être administrés dans l'eau de boisson. Car la consommation de l'eau devient accrue pendant l'infestation par *E* (**Euzeby, 1987**).

Les anticoccidiens utilisés peuvent avoir un effet purement *coccidiostatiques*. Ils inhibent la croissance des coccidies intracellulaires. Ils peuvent avoir un effet purement *coccidiocides* détruisant les coccidies pendant leur développement.

Les anticoccidiens de la première classe sont des produits chimiques de synthèse. Ceux de la deuxième sont ionophores. Ils agissent sur le métabolisme du parasite. Ils sont utilisés à titre préventif (**Manger, 1991**).

Il existe aussi des anticoccidiens non spécifiques principalement les sulfamides. Ces substances ont une activité anticoccidienne ; mais très toxique pour le rein chez les jeunes oiseaux.

Par ailleurs, certains antibiotiques ont une activité anticoccidienne, telle que la framycétine distribuée à la dose de 20 à 30 mg par Kg de poids vif pendant 2 jours dans l'eau de boisson.

3.2.1.11. Problèmes de résistance

L'utilisation intensive et aléatoire des produits de synthèse pour combattre la coccidiose a conduit à l'apparition de coccidies résistantes.

L'utilisation anarchique de ces anticoccidiens par les éleveurs, inconscients de l'importance du respect de la posologie et du programme de prophylaxie, accentue l'émergence et l'apparition précoce et la persistance des coccidies résistantes.

Pour mener à bien la lutte contre la coccidiose. En plus des anticoccidiens de synthèse beaucoup plus utilisés à titre curatif, des substituants naturels sont utilisés de façon préventive dans l'aliment afin de baisser la pression parasitaire telle que les plantes médicinales et quelques algues comme la spiruline (**Manger, 1991**).

3. Matériels et méthodes

3.1. Problématique

Les antibiotiques, les anticoccidiens et les traitements chimiques utilisés contre plusieurs maladies peuvent causer des effets secondaires indésirables pour la santé humaine et animale, modifier la flore commensale digestive ainsi qu'une certaine résistance vis-à-vis quelques espèces bactériennes et parasitaires.

Le regain d'intérêt de ces algues pour ces effets antimicrobiens et anticoccidiens donne une idée de tester les extraits de la spiruline pour lutter contre les bactéries pathogènes stricts et opportunistes, les parasites, ainsi d'améliorer la flore commensale grâce à ces intéressantes propriétés.

3.2. Objectif

Le but de notre travail est de déterminer l'activité antibactérienne et anticoccidienne des extraits de la spiruline extraite par différents solvants afin de prévoir la capacité d'extraction qualitative et quantitative de la substance antibactérienne in vitro.

3.3. Matériels et méthodes

Notre travail a été effectué au niveau du laboratoire régional vétérinaire de Hassi Memeche et laboratoire de (biochimie, microbiologie et de biologie animale) de l'université d'Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

3.3.1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est l'algue bleu-verte : La spiruline (*Arthrospira platensis*).

3.3.2. Matériels

La liste des différents appareils utilisés lors de l'expérimentation est la suivante :

- Rotavapeur de type BÜCHI	-Spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau
- Centrifugeuse HETTICH UNIVERSAL	- Centrifugeuse à froid
- Microscope optique	- Haute de sécurité-
- Cellule de Mc Master	- Bain marie
-Incubateur orbital/shaker SI50	- Etuve

3.4. Produits chimiques

Plusieurs réactifs chimiques ont été utilisés dans notre étude : $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : 2\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , KCl , NaCl , NaOH , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, HBSS (Hank's Balanced Solution without sodium

bicarbonate and phenol red), et l'agar, et les solvants méthanol, éthanol, acétone, chloroforme ont été obtenus de Prolabo. La Pénicilline 1million UI et le Fluconazole 50mg ont été procuré à la pharmacie.

Les anticoccidiens utilisés dans l'expérimentation concernant la parasitologie sont la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime, et le Toltrazuril. Ils ont été testés à des concentrations recommandées par les fabricants.

3.5. Méthodes d'extraction

3.5.1. Extraction des huiles par méthode de Folch

- Faire homogénéiser la spiruline broyé dans un mélange chloroforme-méthanol 2v /v

1g de spiruline..... 20 ml.

5g de spiruline..... 200 ml pour la première extraction.

10 g de spiruline..... 100 ml pour la deuxième extraction (figure 17).



Figure 16 : Broyage de la spiruline.

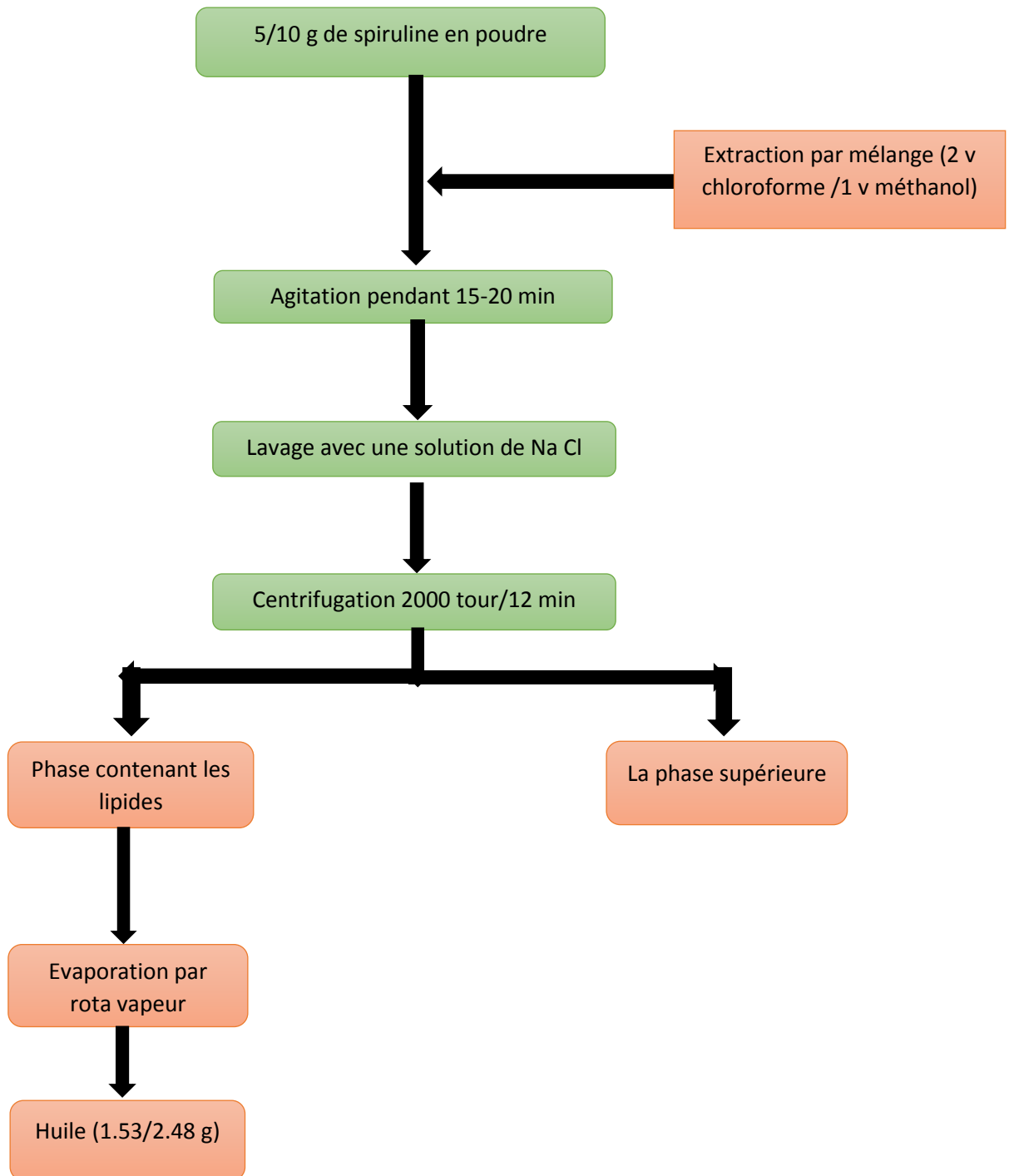


Figure 17 : Méthode d'extraction des huiles par Folch

3.5.2. Extraction de l'extrait brut par macération

L'extrait méthanolique, éthanolique, acétonique de la spiruline a été préparé à partir de 10g de cette micro-algue dans la première extraction et à partir de 15 g dans la deuxième extraction.

Les trois extraits ont été mise à une macération dans les trois solvants, à température ambiante et à l'ombre pendant 3 jours (Mbiantcha et al., 2011). Ensuite, la solution a été filtrée par une passoire pour éliminer les débris. Les solvants ont été récupérés du filtrat par évaporation dans un rota vapeur de type BÜCHI, à une température appropriée pour chaque solvant (figure 18).

L'extrait obtenu a été conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

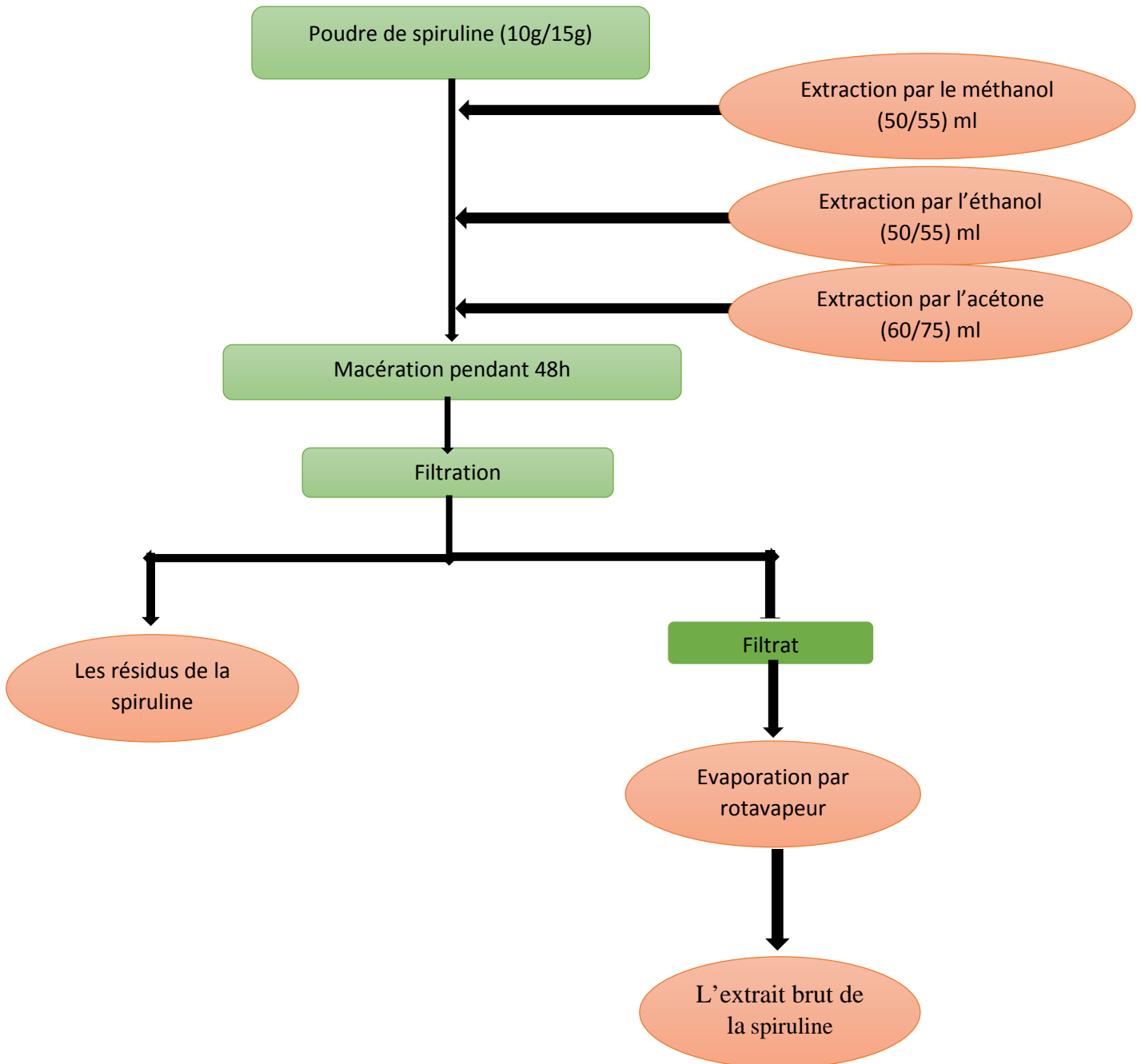


Figure 18: Extraction des extraits bruts par macération



Figure 19 : l'extraction de la spiruline par macérations avec les trois solvants (éthanol, méthanol, acétone).

On a dilué les extraits avec un volume de solvant pour récupérer l'extrait brut final (5 ml de chaque solvant).

Les seconds extraits sont dilués avec de l'eau distillée à raison de 10 ml, les poids finaux sont indiqués dans le tableau 9.

Tableau 9 : Les poids des extraits bruts final

Poids de la spiruline	Poids des extraits bruts
10 g de spiruline (première macération)	1.31g extrait méthanolique
	0.27g extrait éthanolique
	0.48g extrait acétonique
15 g de spiruline (deuxième macération)	0.65g extrait méthanolique
	1.38g extrait éthanolique
	1.51g extrait acétonique

3.6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de spiruline

3.6.1. Isolement, purification et identification des bactéries

Matériel microbien

Les germes étudiés ont été isolés à partir de l'intestin et du tube digestif du poulet de chair

a. Isolement des entérobactéries

Escherichia coli, *Entérobacter*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella galinarum*

a.1. Le pré-enrichissement

- L'échantillon à analyser est prélevé, puis introduit dans un tube contenant 9 ml de l'eau peptonée.

Il est ensuite incubé à 37 °C pendant 24h



Figure 20 : Isolement des bactéries à partir de l'intestin.

a.2. L'enrichissement

- Après incubation, on prélève environ 5ml, et on l'ajoute à 9ml le milieu SFB, incubé à 37°C pendant 24h.

a.3. L'isolement

Environ 15 ml du milieu Hecktoen est coulé dans des boîtes de Pétri dans des conditions aseptiques.

Après le refroidissement et solidification du milieu de culture sur la paillasse, à l'aide d'une anse de platine, on ensemence (ensemencement en surface) la suspension bactérienne sur la gélose, les boîtes sont ensuite fermées et incubées à température de 37°C pendant 24 h.

Après incubation et apparition des colonies suspectées, on a effectué des tests biochimiques concernant chaque souche pour les identifier.

a. 4. Identification des espèces isolées

➤ Tests effectués pour les entérobactéries

Une multitude de tests biochimiques ont été effectués pour identifier les souches étudiées :

- A l'aide d'une anse de platine, on prend une colonie bien isolée dans la boîte de Petri de chaque bactérie suspectée et on la repique sur un tube de TSI incliné, incubé à 37°C pendant 24h.

- si le test est positif, on passe au test suivant, qui est soit la galerie classique soit l'APIE20 spécifique aux entérobactéries.

-Après identification, on repique toutes les souches étudiées sur gélose MH pour effectuer l'antibiogramme.

b. isolement de *Staphylococcus aureus*

La bactérie a été isolée à partir de la trachée du poulet de chair.

b.1. L'enrichissement

- Après prélèvement, l'échantillon a été mis en 5ml de milieu B.H.I.B, puis incubé à 37°C pendant 24 h.

b.2. L'isolement

Environ 15 ml du milieu Chapman est coulé dans une boîte de Pétri dans des conditions aseptiques.

A l'aide d'une anse de platine, on prend une suspension du milieu B.H.I.B et on la repique (ensemencement en surface) sur la boîte contenant le milieu Chapman.

- Incubation à 37°C pendant 24h.

- L'apparition des colonies dorées nous a confirmé la présence de *staphylococcus Sp.*

- Pour identifier l'espèce, on a effectué des tests biochimiques représentés dans l'API staph.

- Après identification, on a repiqué la souche de *staphylococcus aureus* sur milieu MH.

c. Activation et repiquage de *Listeria Monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S.typhimirium* et *S.enteritidis*

c.1. Activation

Ces quatre bactéries sont des souches pures. On les active en les mettant dans une solution de B.H.I.B, incubées à 37°C pendant 24h.

c.2.Repiquage

Des boîtes de gélose nutritive ont été coulées afin de les utiliser pour purifier les quatre souches bactériennes.

Après l'identification de toutes les souches bactériennes, on les a repiquées sur milieu MH pour effectuer l'antibiogramme.

3.7. L'antibiogramme

3.7.1. Préparation de l'inoculum

On prépare des tubes à essais contenant une solution de 9 ml de l'eau physiologique pour chaque tube, à l'aide d'une pipette Pasteur, on prend une masse de chaque colonies des dix bactéries et on les met dans l'eau physiologique.

La suspension bactérienne prélevée est équivalente au standard de Mc Farland 0.5.



Figure 21 : Standard de Mc Farland

3.7.2. L'antibiogramme sur milieu muller-Hinten (MH)

-Toutes les souches bactériennes à étudier ont été ensemencées par la méthode d'écouvillonnage sur une gélose MH à partir de l'inoculum préparé dans des conditions aseptiques.

- On dépose sur la surface gélosée ensemencée des disques d'antibiotiques pour chaque souche.

- Pour les entérobactéries :
 - Amoxicilline (Amox)
 - Tétracycline (Tétra)
 - Marbofloxacin (Marb)
 - Fluméquine (Flum)

- Pour Proteus et Pseudomonas :
 - Ticarcyline (Ttc)
 - Ciprofloxacine (Cip)
 - Enrofloxacin (Enr)
 - Tobramycine (Tmn)

- Pour Listeria :
 - Amoxicilline
 - Erythromycine (Ery)
 - Pénicilline (Pen)
 - Pénicilline G (Pen G)

- Pour Staphylococcus :
 - Cefoxitine (Fox)
 - Oxacilline (Oxa)
 - Erythromycine
 - Pénicilline

3.7.3. Préparation des disques

3.7.3.1. Préparation de l'inoculum

La même opération a été répétée pour l'essai de la spiruline.

3.6.3.2. Préparation des disques de la spiruline

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques à base de papier filtre de 6 mm de diamètre stériles (stérilisation à 120°C pendant 20 min par autoclavage) ont été imbibés par les extraits de la spiruline (extrait méthanolique ; extrait éthanolique, extrait acetonique et l'huile) puis ils ont été déposés sur la gélose (4disques/boite).

Ainsi, que des disques imbibés pour les quatre solvants utilisés (Ethanol, Méthanol, Acétone et Chloroforme) pour éliminer l'effet des solvants (4 disques/boite). Les boîtes sont ensuite fermées et incubées à température de 37°C pendant 24 heures (Hellali, 2001).

3.8. Etude de l'activité antiparasitaire (anticoccidienne) des extraits de la spiruline

3.8.1. Préparation des milieux de culture

La préparation des différents milieux de cultures et les tests biologiques ont été effectués le même jour afin d'éviter toute contamination microbienne qui peut fausser les résultats.

3.8.1.1. Solution d'HBSS-agar

Une quantité de 900 mg d'HBSS (Hank's Balanced Solution without sodium bicarbonate and phenol red) dont la composition est résumée dans le tableau, a été dissoute dans 1000ml d'eau distillée par agitation magnétique. On a ajouté ensuite à cette solution, de la pénicilline 100UI/ml comme antibiotique, et du Fluconazol 17mg/ml comme antifongique. Cette solution a été stérilisée à la fin par filtration sur filtre de 0,2µm de diamètre.

Tableau 10 : Constituants de la solution HBSS

Composants	Concentration (g/l)
Chloride de calcium (anhydre)	0.1396
Sulfate de Magnésium	0.09767
Chloride de Potassium	0.4
Potassium phosphate monobasique	0.06
Chloride de sodium	8.0
Sodium Phosphate Dibasique	0.04788
D-glucose	1.0

Une solution semi-liquide de 0,2% d'agar a été également préparée et stérilisée dans l'autoclave à 120°C pendant 30mn. Les deux solutions d'HBSS (100ml) et d'agar (100ml) ont été mélangées vigoureusement sur agitateur magnétique dans des conditions stériles afin d'éviter toute contamination.

3.8.1.2. Solution tampon PBS (phosphate buffered saline)

Une solution d'un litre de PBS a été préparée à partir de NaCl, KCl, Na₂HPO₄.2H₂O, et KH₂PO₄. Leurs concentrations (g/l) sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Composition chimique de la solution tampon PBS (Remmal et al., 2011).

NaCl	137mM	8.0 g
KCl	2.7mM	0.2 g
NaHPO ₄ , 2H ₂ O		1.13 g
Kh ₂ PO ₄	1.76mM	0.2 g

On a ajouté à 100 ml de PBS de la pénicilline 100 UI/ml et du Fluconazol 17mg/ml. Le pH a été ajusté à 7.4 et la solution a été ensuite stérilisée.

3.8.2. Prélèvement des échantillons

Les intestins sont retirés des carcasses et leurs faces externe et interne ont été examinées. Le prélèvement des matières fécales a été effectué par raclage à différents niveaux des intestins en plusieurs endroits (figure 33, 34) afin de récupérer la totalité du contenu (Conway and McKenzie, 2007).

Les deux prélèvements fécales pesés à raison de 30 g pour la MFI et 4 g pour la MFC sont répartis dans des pots en plastique, et coulés par le milieu d'enrichissement PBS, conservés à une température de 5 à 10°C à raison de 1g par 14 ml de PBS.

1g.....14 ml de PBS

30g420 ml de PBS pour la MFI

4g.....56 ml de PBS pour la MFC



Figure 22 : échantillon Caecal



Figure 23 : échantillon intestinal



Figure 24 : Raclage des caecums, des intestins et récupération de la matière fécale

3.9. Effets des extraits de la spiruline sur le nombre des oocystes

3.9.1. Examen microscopique direct

Cet examen permet de confirmer la présence des coccidies dans les différents échantillons de raclage et de déterminer la charge oocystale initiale. Ces derniers ont été immergés avec du PBS.

Les différentes préparations qui en résultent sont ensuite tamisées à travers une passoire afin d'éliminer les gros débris gênants. A l'aide d'une micropipette, 150 μ l de la matière fécale a été prélevée en superficie du milieu et déposée sur une lame de Mc Master recouverte d'une lamelle. Les différentes lames ont été par la suite observées au microscope optique aux objectifs x 40 et x 100 (Hendrix, 1998; Bowman, 1999).

3.9.2. Dénombrement des oocyste initiales

Le dénombrement des oocystes présents dans l'échantillon initial (le témoin), mais également ceux testés au cours de l'étude de l'effet anticoccidien des extraits de la spiruline a été réalisé à l'aide d'une lame de type Mc Master (**Conway and McKenzie, 2007**).

Après avoir effectué la mise en point au microscope optique au grossissement x25 puis x40, chaque cellule de la lame est remplie par l'échantillon (150µl) et couverte par une lamelle. Après un temps d'attente d'environ 7 minutes permettant aux bulles d'air de s'échapper et aux œufs de monter à la surface du liquide d'enrichissement et d'adhérer à la lamelle couvrant la cellule, le comptage des oocystes est effectué dans chaque puit de la cellule. Trois comptages par échantillons sont effectués. Après avoir déterminé le nombre moyen d'oocystes par puit, celui-ci est multiplié par 100.

3.9.2.1. Effets des extraits de la spiruline sur le nombre d'oocystes

Une plaque de 96 puits estensemencée avec le milieu de culture HBSS-Agar à raison de 140µl par puit. Les extraits testés sont :

- Extrait méthanoïque
- Extrait éthanoïque
- Extrait acétonique
- Huiles

Les concentrations testées des extraits sont 0.2g, 0.1, et 0.05 g/ml, et chacune d'elle a été répétée trois fois. En final, Chaque deux colonnes de la plaque correspondent à un extrait précis. Pour chaque concentration testée (40µl), un volume de 20µl de la suspension parasitaire contenant 50.7×10^2 oocystes est rajouté par puit concernant la matière fécale caecale et 32.33×10^2 pour la matière fécale intestinale.

Les anticoccidiens ont été utilisés comme substance de référence pour tester la sensibilité du parasite, à raison de 0.05, 0.1 g/ml. Ces deux control ainsi que le témoin ont étéensemencés dans une autre plaque avec les mêmes conditions que celles de la première plaque plus les solvants.

Les deux plaques sont recouvertes et placées dans l'incubateur à 25-30°C pendant 24h.

A la fin de l'incubation, le nombre des oocystes de chaque puit a été déterminé à l'aide d'une cellule type Mc Master (répété trois fois). Les résultats sont exprimés en variation du nombre d'oocystes en fonction de la concentration de chaque extrait de la micro-algue.

3.9.2.2. Effets des extraits de la spiruline sur le nombre des oocystes et la libération des substances absorbants à 273nm

L'action lytique des extraits sur les oocystes d'*Eimeria sp* a été également étudiée en mesurant l'absorbance à 273nm des matériaux cellulaires libérés par les oocystes détruits ou lysés. Cet essai a été accompli en incubant pendant 24h à température ambiante des aliquotes de 1ml dans des épindhoffs stériles et composés de :

- 100µl de la suspension parasitaire lavée contenant 50.7×10^2 oocystes/g pour la MFC et 32.33×10^2 oocystes/g pour la MFI.
- 700µl de PBS (phosphate buffer saline) à pH 7,4.
- 200µl de chaque extrait de spiruline à concentration décroissante 0.2, 0.1 et 0.05 g/ml.

Ce test a été répété trois fois pour chaque concentration de chaque extrait.

Après incubation, les épindhoffs ont été centrifugés à 3200 tours pendant 5 minutes. Les surnageants récupérés (500µl) ont été utilisés pour la lecture des absorbances à 273nm au spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (Techcomp).

Enfin, les précipités qui résultent de la centrifugation ont été utilisés pour le dénombrement des oocystes à l'aide de la cellule type Mc Master (pour chaque concentration d'un extrait, le dénombrement a été répété trois fois).

L'effet des solvants a été également étudié dans les mêmes conditions de l'expérience faite sur les extraits de la spiruline ainsi que la sulfaquinoxaline sodique trimétoprime et la toltrazuril, qui est testée comme anticoccidien à raison de 0.05, 0,1 g/ml. Les résultats ont été exprimés en variation de l'absorbance à 273nm en fonction du nombre d'oocystes.

4. Résultats et discussions

4.1. Résultats de l'isolement et l'identification des souches bactériennes

4.1.1. Isolement et identification des entérobactéries

a. Isolement

- *E. coli*

Après l'ensemencement sur milieu Hektoen et incubation à 37°C, les colonies de *E. coli* sont apparues jaunes et qui sont parfaitement lisses, bombées et a contour régulier, d'un diamètre de 2 à 3 mm (Figure25).

- *Proteus*

La croissance de *Proteus* sur milieu Hektoen à 37°C pendant 24 heures a donné des colonies diffusées sur tout le milieu avec des contours irréguliers et fond bombé, d'une couleur bleu-vert et d'un diamètre de 2 à 3, ces colonies dégagent une odeur désagréable (Figure26).

- *Enterobacter*

La croissance d'*Enterobacter* sur milieu Hektoen à 37°C pendant 24 heures a donné des colonies jaunâtres à fond bombé (Figure26).



Figure 25 : Isolement d'*E.coli* sur milieu Hektoen

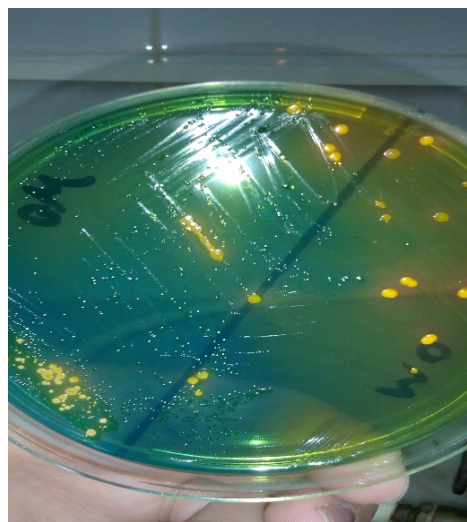


Figure 26 : Isolement de *Proteus* et *Entérobacter* sur milieu Hektoen

- *Salmonelles*

Après ensemencement sur milieu Hektoen et incubation à 37°C, les colonies sont apparues verdâtres avec un centre noir (Figure 27).

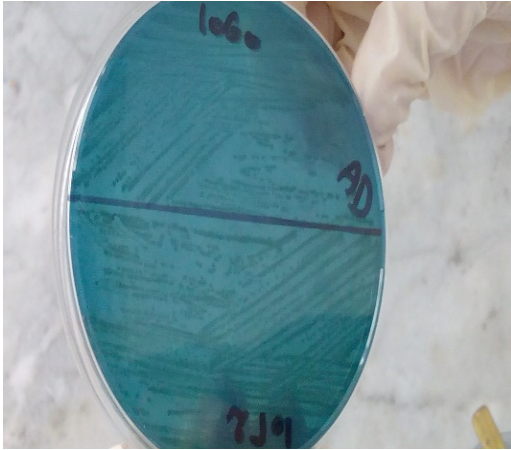


Figure 27 : Isolement des *Salmonelles* sur milieu Hektoen

b. Identification

La caractérisation de nos souches isolées par le test de TSI et par système Api 20^E et la galerie Api classique (Figure 28, 29 ; tableau 12).



Figure 28 : Test TSI positif pour *E.coli*



Figure 29 : Test TSI positif pour *salmonelle*

Tableau 12 : Résultat de la culture d'*E. Coli* et *Salmonelle* sur gélose TSI

Souches	Pente				H ₂ S
	Lactose/ Saccharose	Glucose	Gaz		
<i>E.coli</i>	+	+	+		-
<i>Salmonelle sp</i>	+	+	+		+

- Pour *E. coli*, il y a un virage de la couleur de la pente : dégradation du lactose et du saccharose et virage de la couleur du culot : dégradation de glucose, avec production de gaz, H₂S négatif.
- Pour *Salmonelle*, il y a un virage de la couleur de la pente : dégradation de lactose et du saccharose et virage de la couleur du culot : dégradation de glucose, avec production de gaz, H₂S +.

**Figure 30** : Résultat d'Api 20^E pour *E. coli***Figure 31** : Galerie classique pour *Proteus mirabilis* et *Enterobacter sp*

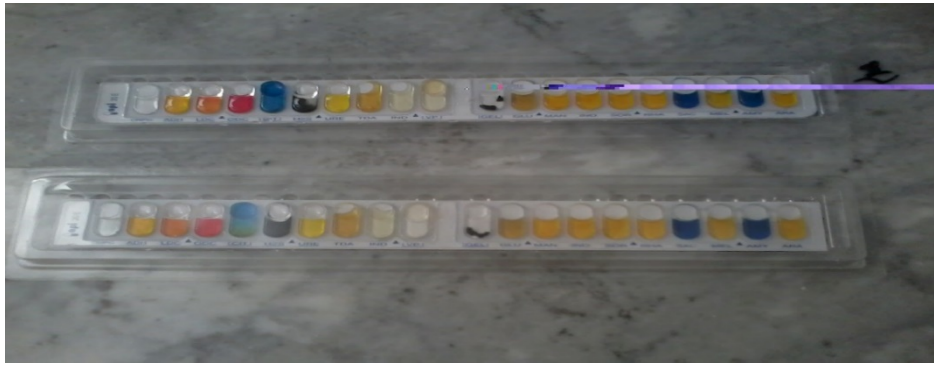


Figure 32 : Résultat d'Api 20^E pour *S.typhi* et *S.gallinarum*

Tableau 13 : Les résultats des micros-réactions biochimiques d'Api 20^E

Bactéries Tests	E. coli	Enterobacter sp	Proteus mirabilis	Salmonella typhi	Salmonella gallinarum
ONPG	+	+	-	-	-
ADH	-	+	-	-	-
LCD	+	+/-	-	+	+
ODC	+	V	+	+	+
CIT	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	+	+	+
URE	-	+/-	+	-	-
TDA	-	-	+	-	-
IN	+	-	-	-	-
VP	-	+/-	-	-	-
GEL	-	-	+	-	-
GLU	+	+	+	+	+
MAN	+	+	-	+	+
INO	-	V	-	-	-
SOR	+	+	-	+	+
RHA	+	+	-	+	+
SAC	-	+	-	-	-
ME	+	+	-	+	+
AMY	-	+	-	-	-
ARA	+	+	-	+	+
OX	-	-	-	-	-

- On se base sur cinq micro-réactions telles que : ONPG, ADH, H₂S, URE et VP.

4.1.2. Isolement et identification de *Staphylococcus aureus*

a. Isolement

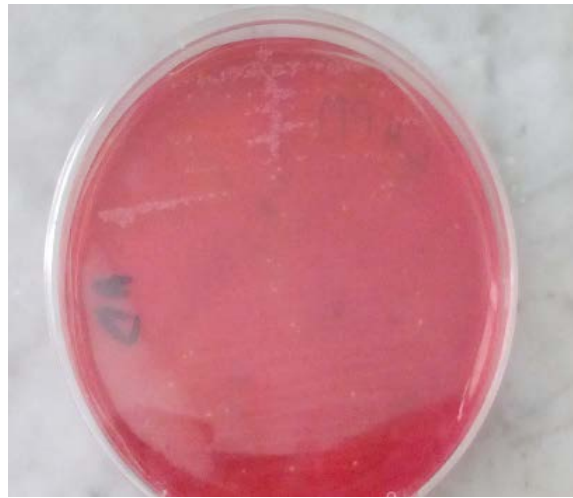


Figure 33 : Isolement de *S.aureus* sur milieu Chapman

- Après 24h d'incubation à 37°C les *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman apparaissent opaques de couleur blanchâtre crémeuse et de bordure régulières de 2 à 3 mm de diamètre (Figure33)

b. Identification



Figure 34 : Résultat d'Apti pour *S.aureus*

Tableau14 : Résultats des micros-réactions biochimique d'Api Staph.

Tests \ Bactérie	<i>S.aureus</i>
GLU	+
FRU	+
MNE	+
LAC	+
TRE	+
MAN	+
XLT	-
MEL	-
NIT	+
PAL	+
VP	+
RAF	-
XYL	-
SAC	+
MDG	-
MAG	+
ADH	+
URE	+

- Pour les tests de **GLU**, **FRU**, **MNE**, **MAL**, **LAC**, **SAC** positifs : dégradation des sucres glucose, fructose, mannose, maltose, lactose et saccharose respectivement.
- **VP positif** : présence d'acétoine et de butane diol.
- **ADH positif** : il s'agit d'une bactérie non décarboxylante.

4.2. L'activité antibactérienne des extraits de la spiruline

Les résultats de l'évaluation antimicrobienne des extraits sont présentés ci-dessous et inclus les valeurs en (mm± écart-type) des diamètres des zones d'inhibition.

Les figures suivantes présentent les résultats de l'effet des extraits de la spiruline sur les dix souches bactériennes étudiées utilisés :

➤ **Résultats**

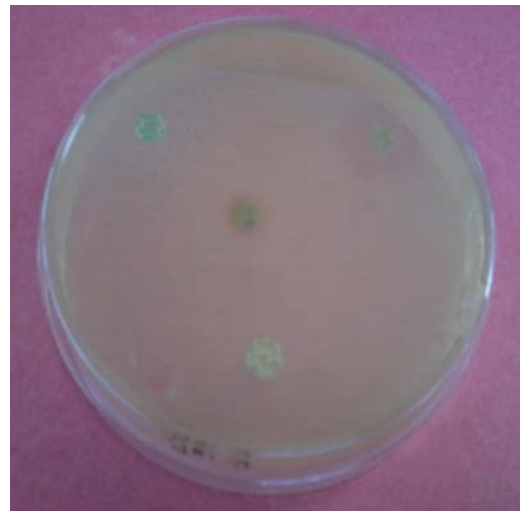
Pour les entérobactéries :

4.2.1. *Escherichia coli*



A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Amox, Tetra, Marb, Flum)



C

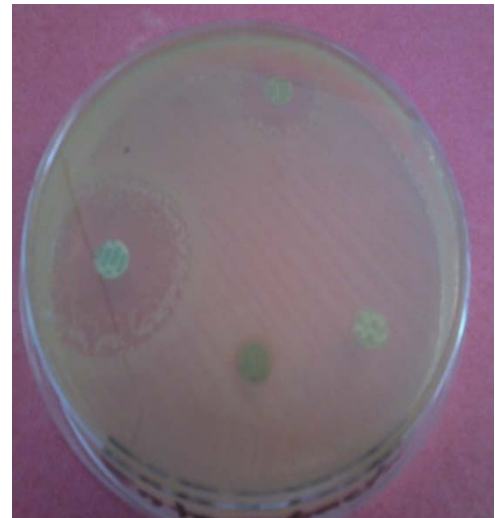
(A, E, M, CH)

Figure 35 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité bactérienne d'*Escherichia coli*.

4.2.2. *Enterobacter sp*

A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Amox, Tetra, Marb, Flum)



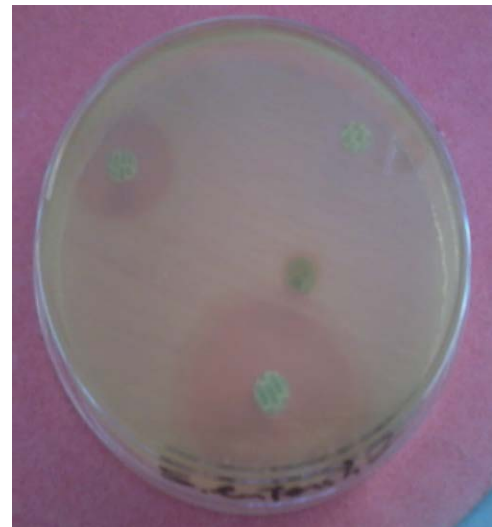
C

(A, E, M, CH)

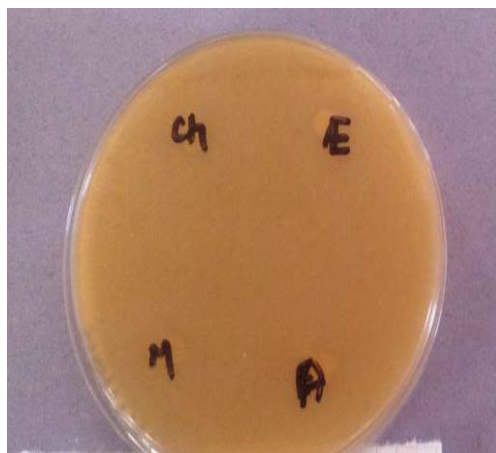
Figure 36 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne d'*Enterobacter sp*.

4.2.3. *Salmonella enteritidis***A**

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)

**B**

(Amox, Tetra, Marb, Flum)

**C**

(A, E, M, CH)

Figure 37 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Salmonella enteritidis*.

4.2.4. *Salmonella gallinarum*

A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Amox, Tetra, Marb, Flum)



C

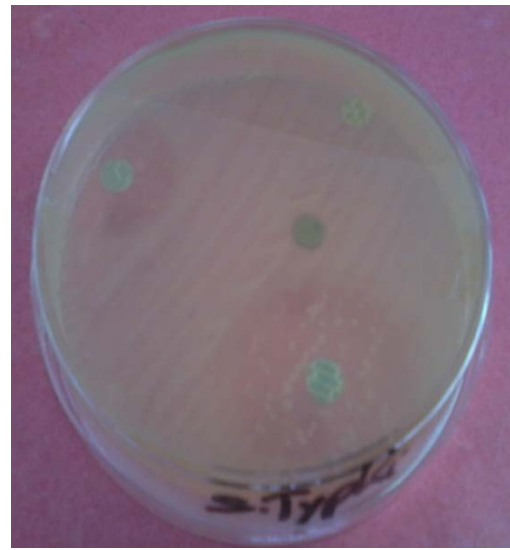
(A, E, M, CH)

Figure 38 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Salmonella gallinarum*.

4.2.5. *Salmonella typhi*

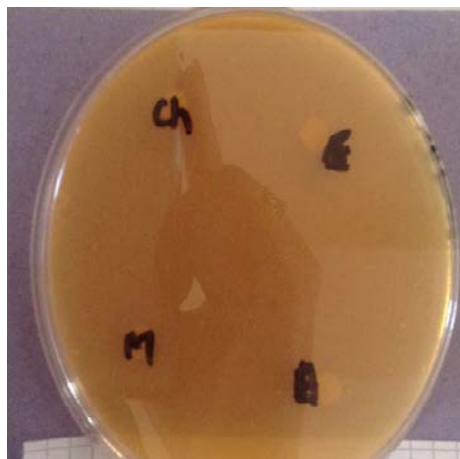
A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Amox, Tetra, Marb, Flum)



C

(A, E, M, CH)

Figure 39 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Salmonella typhi*.

4.2.6. *Salmonella typhimirium*

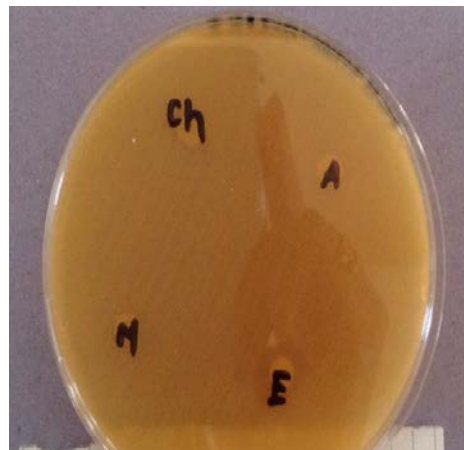
A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: Huile)



B

(Amox, Tetra, Marb, Flum)



C

(A, E, M, CH)

Figure 40 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis*(spiruline) (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Salmonella typhimirium*.

- Le tableau ci-dessus reporte les valeurs des zones d'inhibition en mm engendrées par les extraits de la spiruline et les antibiotiques chez les entérobactéries

Tableau 15 .Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour les entérobactéries.

Antibiotiques + extraits Bactéries	EBe	EBm	EBa	Huile	Amox	tetra	Marb	Flum
<i>Escherichia coli</i>	12±1.1	10±0.8	R	R	22±0	7±0	13±0	R
<i>Enterobacter sp</i>	19±0	15±0	R	R	21±0	30±0	17±0	17±0
<i>Salmonella typhi</i>	16±0.63	12±1.1	14±0	R	35±0	R	25±0	R
<i>Salmonella typhimurium</i>	16±0	12±0.8	10±0	R	R	7±0	18±0	R
<i>Salmonella enteritidis</i>	10±1.1	13±0	R	R	37±0	8±0	22±0	R
<i>Salmonella gallinarum</i>	12±0.8	11±0	10±0	R	31±0	8±0	25±0	R

E.coli

On observe que l'extrait éthanolique et méthanolique donnent des zones d'inhibition remarquable de (12±1.1, 10±0.8 mm) respectivement donc ils ont un effet moyennement actif sur *E.coli* par rapport à l'Amoxicilline (22±0 mm), un effet très actif par rapport à la Tétracycline (7±0 mm) et un effet similaire à la Marbofloxacine (13±0 mm), en revanche *E.coli* semble résistante à l'extrait acétonique et l'huile ainsi que la Flumiquine (tableau 13).

Entérobacter sp

On remarque que l'extrait éthanolique et méthanolique donnent des zones d'inhibition remarquable (19±0,15±0 mm) respectivement donc ils ont un effet moyennement actif sur *Enterobacter sp* par rapport à l'Amoxicilline et la Tétracycline (21±0, 30±0mm) respectivement et un effet presque identique à la Marbofloxacine et la Flumiquine, alors qu'elle est résistante à l'huile (tableau 13).

S.typhi

Les extraits éthanolique, méthanolique et acétonique donnent des zones d'inhibition remarquable (16±0.63, 12±0, 14±0 mm) donc ils ont un effet moyennement actif sur *Salmonella typhi* comparés à l'Amoxicilline et Marbofloxacine (35±0, 25±0 mm),

tandis que l'huile n'a donné aucun effet tel que la Tétracycline et la Flumiquine (tableau13).

S.typhimirium

Les trois extrait bruts ; éthanolique, méthanolique et acétonique sont les plus actifs pour inhiber la croissance de *Salmonella thyphimirium* avec des zones d'inhibition (16 ± 0 , 12 ± 0.8 , 10 ± 0.63 mm) supérieur à la Tétracycline (7 ± 0 mm) et inférieure à la Marbofloxacine (18 ± 0 mm), alors que l'huile n'a donné aucun effet tel que l'Amoxicilline et la Flumiquine (tableau 13).

S.enteritidis

Salmonella enteritidis marque une certaine sensibilité vis-à-vis l'extrait éthanolique, méthanolique de la spiruline avec des zones d'inhibition importante (10 ± 1.1 , 13 ± 0 mm) respectivement par rapport à la Tétracycline (8 ± 0 mm), mais moins remarquable par rapport à l'Amoxicilline (37 ± 0 mm) et Marbofloxacine (22 ± 0 mm), tandis qu'elle résiste au extrait acétonique, l'huile ainsi qu'à l'antibiotique Flumiquine (tableau 13).

S.gallinarum

Les extraits de la spiruline donnent des zones d'inhibition remarquables (12 ± 0.8 , 11 ± 0 , 10 ± 0 mm) comparé à la Tétracycline (8 ± 0 mm) mais un effet moyennement actif par rapport à l'Amoxicilline et Marbofloxacine (31 ± 0 , 25 ± 0 mm) respectivement, alors qu'elle est sensible vis-à-vis l'huile ainsi que la Flumiquine (tableau 13).

➤ Discussion

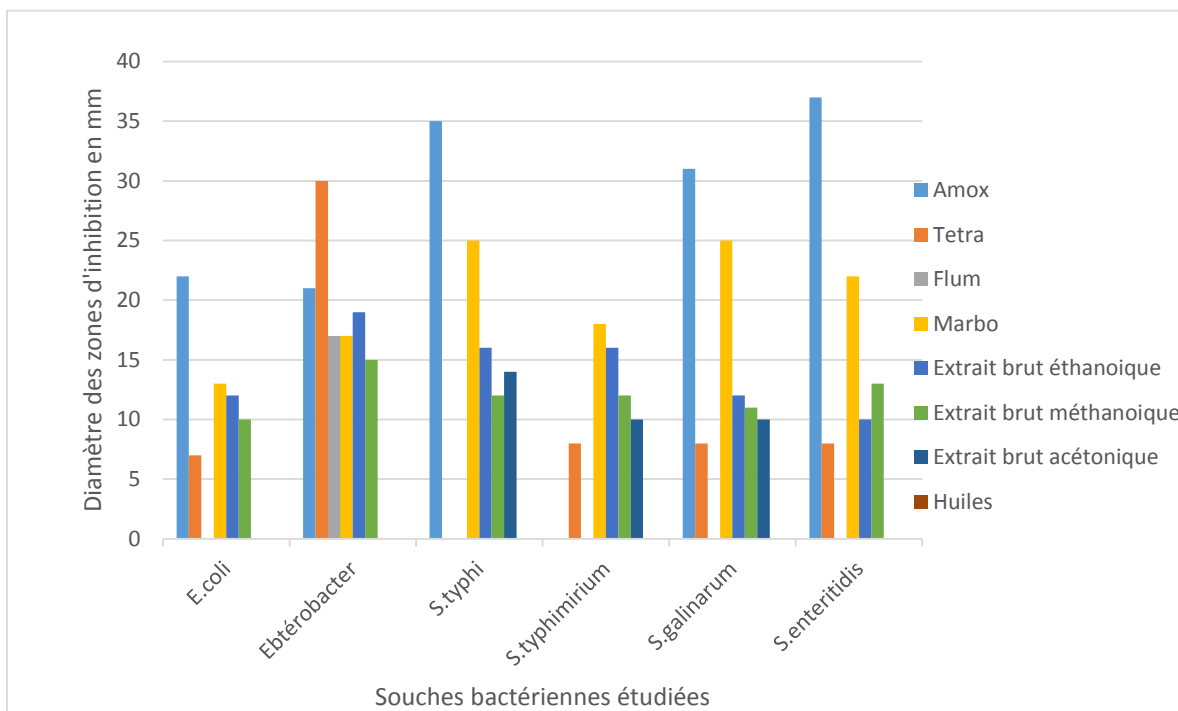


Figure 41 : l'effet des extraits de *l'Arthrospira plantensis* comparés aux antibiotiques sur les entérobactéries exprimées en diamètre des zones d'inhibition en mm.

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné par les extraits étudiés. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Les trois extraits bruts de la spiruline (extrait éthanoloïque, méthanolique et acétonique) ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées.

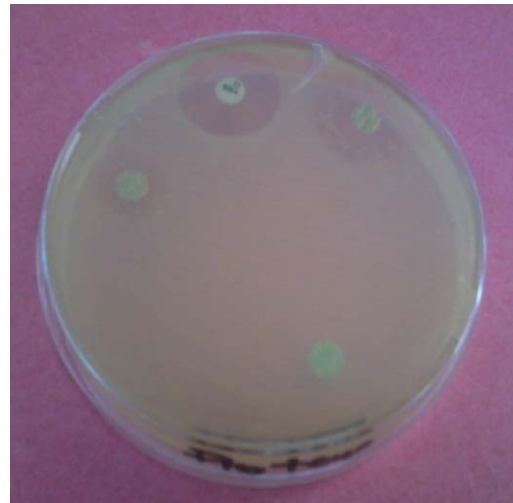
L'extrait éthanoloïque et méthanolique sont les deux extraits qui ont donné un effet antibactérien positif remarquable avec toutes les souches et qui peuvent être des alternatives naturelles à l'antibiotique Fluméquine chez toutes les espèces étudiées, à la Tétracycline chez *S.typhi* et à l'Amoxicilline chez *S.typhimirium* suivie par l'extrait acétonique qui peut aussi remplacer la Flumiquine chez *S.typhi*, *S.typhimirium* et *S.gallinarum*, en revanche l'huile n'a aucun effet sur toutes les bactéries. Nous avons observés que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés.

➤ Résultats

4.2.7. *Proteus mirabilis*

A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Ttc, Cip, Enr, Tmn)



C

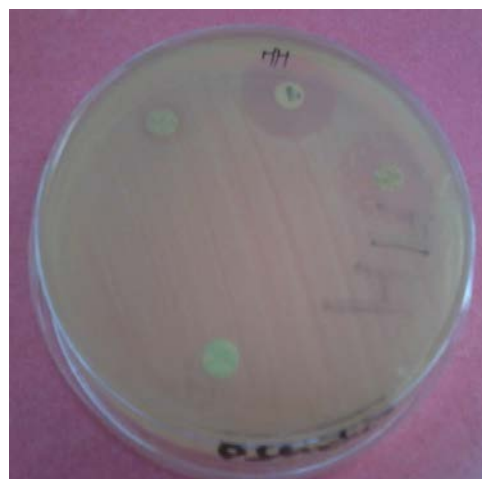
(A, E, M, CH)

Figure 42 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Proteus mirabilis*.

4.2.8. *Pseudomonas sp*

A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Ttc, Cip, Enr, Tmn)



C

(A, E, M, CH)

Figure 43 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Pseudomonas aeruginosa*.

- Le tableau et le graphe ci-dessus reportent les valeurs des zones d'inhibition en mm engendrées par les extraits de la spiruline et les antibiotiques chez les *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau 16. Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques +extraits Bactéries	EBe	EBm	EBa	Huile	Ttc	Cip	Enr	Tmn
<i>Proteus mirabilis</i>	16±0	13±0	R	R	R	24±0	13±0	22±0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14±0	10±0	R	R	R	20±0	10±0	22±0

On observe que *Proteus mirabilis* a une sensibilité vis-à-vis aux extraits bruts éthanolique et méthanolique de la spiruline avec des diamètres d'inhibition relativement remarquables (16±0, 13±0 mm) comparé à l'Enrofloxacin (13±0 mm), mais d'un effet moyennement actif par rapport à la (Ciprofloxacine : 24±0 mm, Tobramycine : 22±0 mm), mais elle est résistante aux deux autres extraits, l'extrait acétonique et l'huile, ainsi qu'à la Ticarcilline (tableau 16).

Pseudomonas aeruginosa a une sensibilité vis-à-vis aux extraits bruts éthanolique et méthanolique de la spiruline avec des diamètres d'inhibition relativement remarquables (14±0, 10±0 mm) comparé à l'Enrofloxacin (10±0 mm), mais d'un effet moyennement actif par rapport à la (Ciprofloxacine : 20±0 mm, Tobramycine : 22±0 mm), mais elle est résistante aux deux autres extraits, acétonique et l'huile, ainsi au Ticarcilline (tableau 16).

➤ Discussion

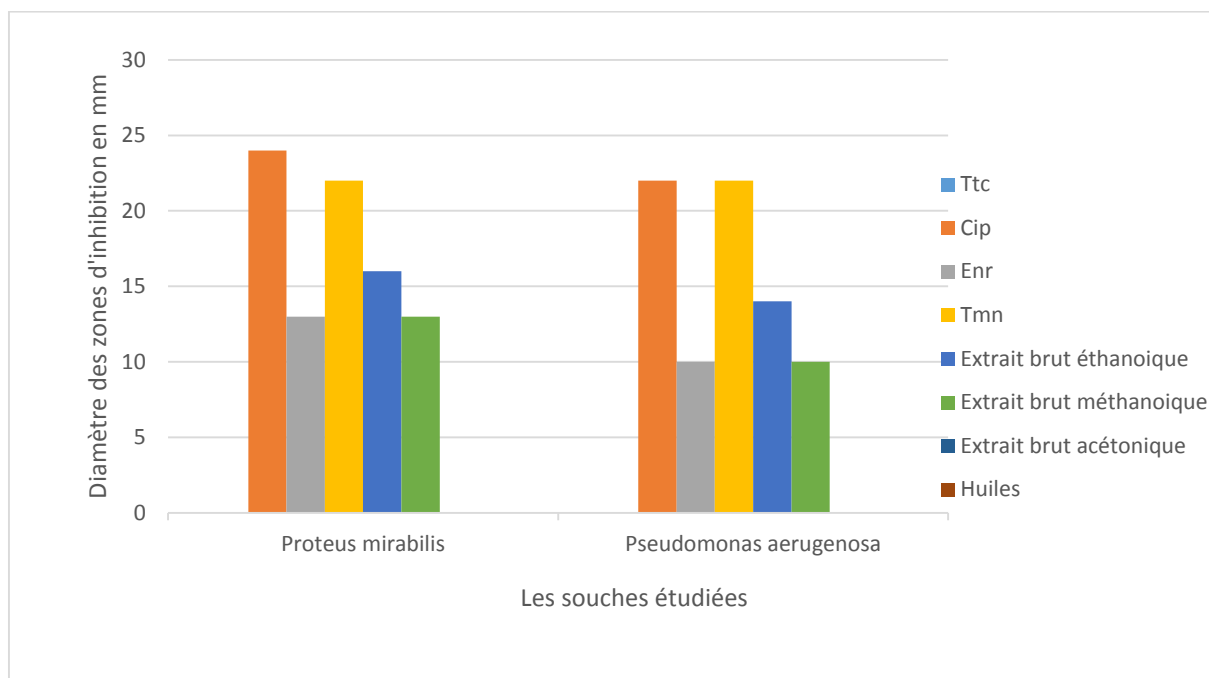


Figure 44 : l'effet des extraits de *l'Arthrospira plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa* exprimées en diamètre des zones d'inhibition en mm.

Les deux extraits bruts de la spiruline (éthanolique, méthanolique) ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées.

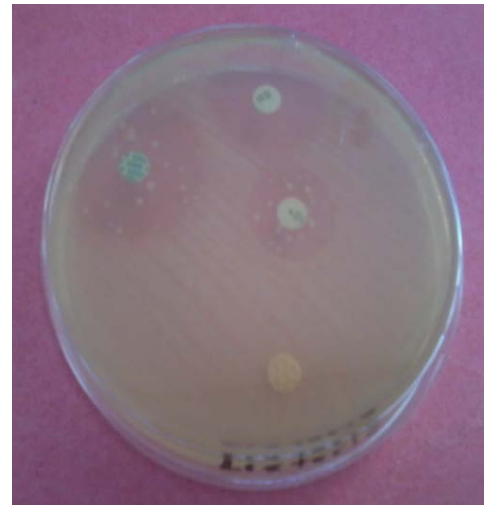
L'extrait éthanolique et méthanolique sont les deux extraits qui ont donné un effet antibactérien positif remarquable avec les deux espèces étudiés, comme il s'est avéré qu'on peut utiliser les deux extraits comme alternatifs à l'antibiotique Ticarcylone car les deux espèces sont résistantes à cet antibiotique mais sensible à un taux non négligeable aux deux extraits. L'extrait acétonique et l'huile n'ont aucun effet antibactérien sur les deux souches. Nous avons observés que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés.

➤ Résultats

4.2.9. *Listeria monocytogenes*

A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Amox, Ery, Pen, Pen G)



C

(A, E, M, CH)

Figure 45 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux antibiotiques (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Listeria monocytogenes*.

- Le tableau et le graphe ci-dessus reportent les valeurs des zones d'inhibition en mm engendrées par les extraits de la spiruline et les antibiotiques chez *Listeria monocytogenes*.

Tableau 17. Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour *Listeria monocytogenes*.

Antibiotiques+ Extraits Bactéries	EBe	EBm	EBa	Huile	Amox	Ery	Pen	Pen G
<i>Listeria monocytogenes</i>	R	14±0.8	R	R	32±0	R	18±0	25±0

On observe que les trois extraits bruts de la spiruline ; éthanolique, acétonique et l'huile n'ont pas donné des zones d'inhibition tel que l'Erythromycine alors que l'extrait méthanolique (14±0.8 mm) donne un effet moyennement actif sur *Listeria monocytogenes* vis-à-vis l'Amoxicilline (32±0 mm), Pénicilline (18±0 mm) et la Pénicilline G (25±0 mm) (tableau 17).

➤ Discussion

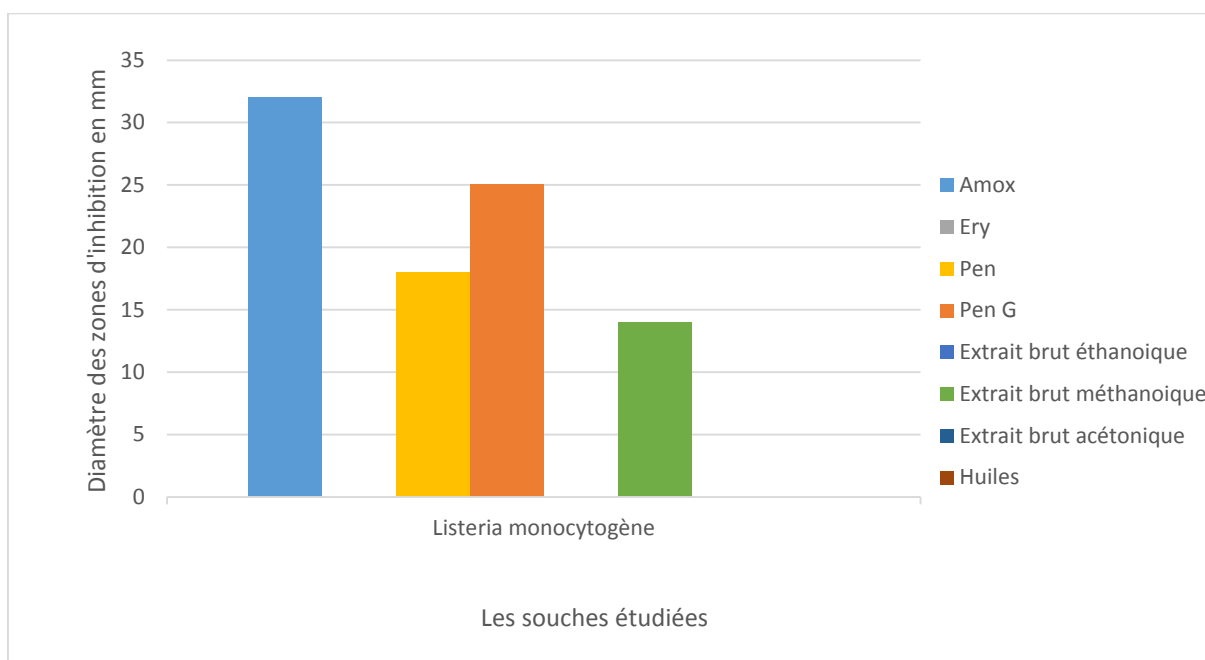


Figure 46 : l'effet des extraits de *l'Arthrospira plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Listeria monocytogenes* exprimée en diamètre des zones d'inhibition en mm.

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition moins remarquable (14±0.8 mm) par rapport aux antibiotiques testés Amoxicilline (32±0 mm),

Pénicilline (18±0 mm) et la Pénicilline G (25±0 mm), seul l'extraits bruts méthanolique de la spiruline qui a réagi positivement sur *Listeria monocytogenes*.

L'extrait éthanolique, acétonique et l'huile n'ont donné aucun effet antibactérien sur cette bactérie tel que l'Erythromycine, il est possible que l'extrait méthanolique peut être un alternatif à l'Erythromycine au moment au cette bactérie est sensible à cet antibiotique.

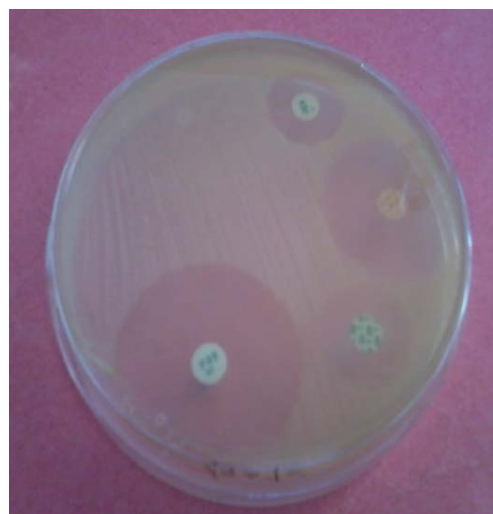
➤ Résultats

4.2.10. *Staphylococcus aureus*



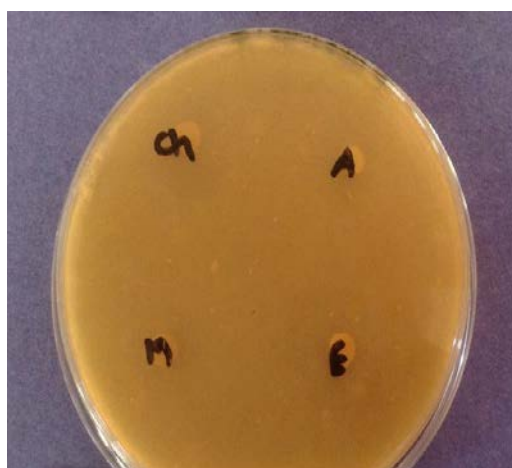
A

(1: EBa, 2: EBe, 3: EBm. 4: huile)



B

(Fox, Ery, Pen, Oxa)



C (A, E, M, CH)

Figure 47 : l'effet des extraits d'*Arthrospira plantensis* (A) comparés aux (B) ainsi que des solvants (C) sur l'activité microbienne de *Staphylococcus aureus*.

- Le tableau ci-dessus reporte les valeurs des zones d'inhibition en mm engendrées par les extraits de la spiruline et les antibiotiques chez *S.aureus*.

Tableau 18. Les diamètres des zones d'inhibition des extraits de la spiruline et des antibiotiques pour *S.aureus*

Antibiotiques+ extraits Bactéries	EBe	EBm	EBa	Huile	Fox	Oxa	Ery	Pen
<i>Staphylococcus aureus</i>	15±0	13±0.8	10±0	R	37±0	19±0	30±0	18±0

On observe que les trois extraits bruts de la spiruline ; éthanolique, méthanolique et acétonique donnent des zones d'inhibition de 15±0, 13±0.8, 10±0 mm, donc ils ont un effet plus au moins faible sur *Staphylococcus aureus* comparé aux antibiotiques utilisés (37±0, 19±0, 30±0 et 18±0 mm) (Céfoxitine, Oxacilline, Erythromycine et Pénicilline) respectivement (tableau 18).

➤ Discussion

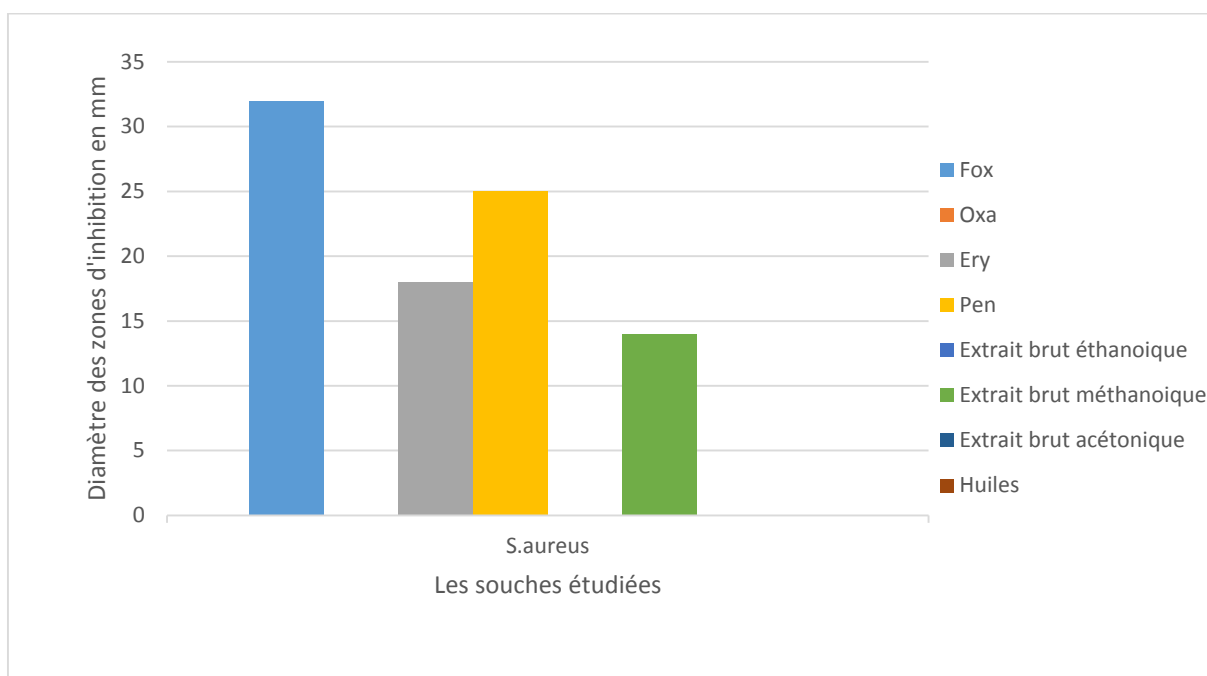


Figure 48 : l'effet des extraits de *l'Arthrospira plantensis* comparés aux antibiotiques sur *Staphylococcus aureus* exprimée en diamètre des zones d'inhibition en mm.

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné par les extraits étudiés. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Les trois extraits bruts de la spiruline (extrait éthanolique, méthanolique et acétonique) ont réagi positivement sur *S.aureus* ils ont donné un effet antibactérien positif remarquable. L'huile n'a aucun effet antibactérien sur cette bactérie.

Remarque

Les résultats négatifs des tests des solvants nous permettent de dire que les solvants ne présentent aucune activité antibactérienne, et seul les extraits algaux qui renferment les substances inhibitrices.

4.3. L'activité anticoccidienne des extraits de la spiruline

4.3.1. Examen microscopique direct des oocystes

L'examen microscopique des échantillons de raclage a révélé la présence d'une quantité importante en oocystes de l'espèce *Eimeria* au stade non sporulé de d'environ ($50.7 \pm 1.1 \times 10^2$ pour la MFC et $32.33 \pm 1.6 \times 10^2$ pour la MFI) oocystes/g Leur aspect varie de la forme ovoïde, ellipsoïde, ou circulaire. Elles sont immobiles (absence de flagelle ou de cils) et présentent un globule central appelé sporonte.

Les quelques oocystes sporulés retrouvés dans l'échantillon présentent quatre sporocystes, principale caractéristique du genre *Eimeria* spécifique au poulet (figure 49).

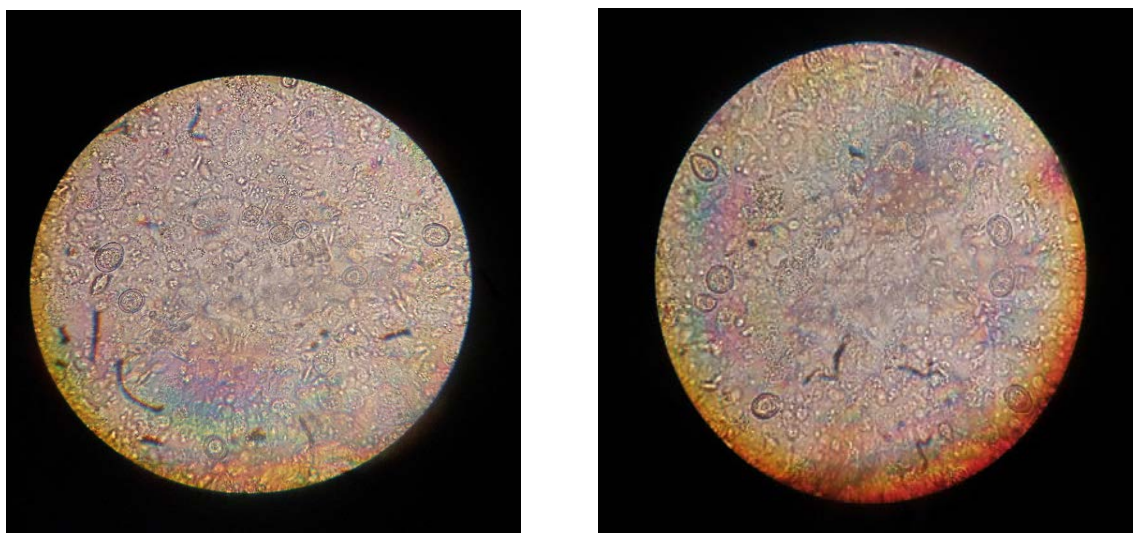


Figure 49 : Observation microscopique des oocystes par la cellule Mc Master (Gordon et Whitlock, 1939) sous microscope optique (grossissement x40).

4.3.2. Les résultats du dénombrement des oocystes d'*Eimeria* à partir de la microplaque

Le résultat du dénombrement des oocystes d'*Eimeria sp* dans l'échantillon suspendu dans le liquide d'enrichissement est d'environ (**50.7 ± 1.1x 10²** pour la MFC et **32.33±1.6x 10²** pour la MFI) **oocystes/g** Cette charge oocystale révèle que les différents sujets d'où on a prélevé l'échantillon étaient gravement atteints de coccidiose, et ont pu être le point de départ de l'apparition de la maladie en contaminant d'autres dans le cheptel d'où ils proviennent.

➤ Résultats

Tableau 19 : Nombre des oocystes obtenus à partir de la microplaque dans les deux prélèvements caecale et intestinale.

Les extraits de la spiruline	Nombre d'oocystes (x10 ² oocystes /1g de fiente)	Nombre d'oocystes (x10 ² oocystes/1g de MFC)
Extrait brut éthanolique 100%	1±0	2±0
Extrait brut éthanolique 50%	4.3±0.4	8±0
Extrait brut éthanolique 25%	6±0	11+/-0
Huile 100%	4.6±0.4	6±0
Huile 50%	5.6±0.4	11±0
Huile 25%	7.3±0.4	15±0
Extrait méthanolique 100%	5±0	9±0
Extrait méthanolique 50%	6±0	14±0
Extrait méthanolique 25%	7.6±0.4	18±0
Extrait acétonique 100%	8±0	12±0
Extrait acétonique 50%	12.3±1.5	17±0
Extrait acétonique 25%	13.6±0.4	23±0
Anticoccidien 1	1.6±0.4	0.5±0.5
Anticoccidien 2	0.6±0.4	1±0
Ethanol	32	50.3±0.5
Méthanol	31.3±0.9	49.3±0.5
Acétone	29.6±1.6	48.66±0.5
Chloroforme	27.7±0.8	50±0
La charge initiale	32.33±1.6	50.7±0.9

➤ Discussion

a. Echantillon caecal

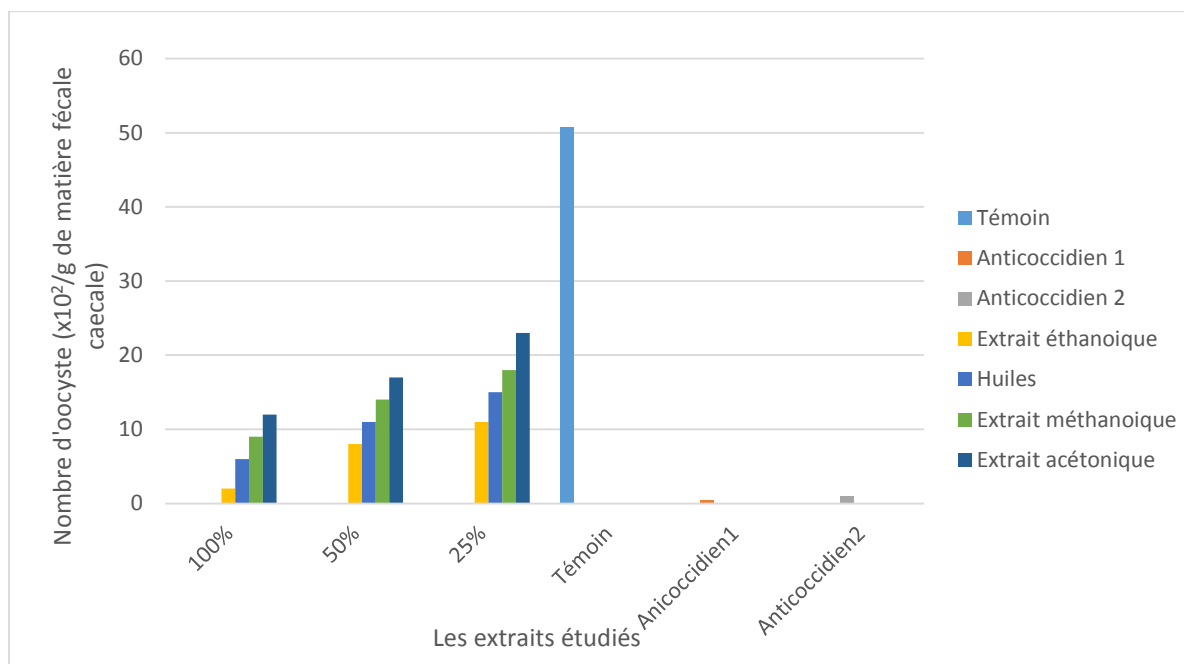


Figure 50 : Effets des extraits d'*Arthrospira plantensis* et des anticoccidiens sur le nombre d'ocystes dans la matière fécale caecale (*Eimeria sp.*).

Le nombre des oocystes d'*Eimeria sp* a été réduit par les quatre extraits de manière dose dépendante, dans un intervalle de concentration situé entre 0.05, 0.1, 0.2g/ml. Exprimé sous forme 25%, 50%, 100%, les résultats indiquent que le traitement le plus coccidiocide est celui de l'extrait brut éthanolique à 100% suivi par l'huile, l'extrait méthanolique et l'extraie acétonique.

En effet, les proportions des oocystes détruites en comparaison avec le témoin sont de :

- De 96% par l'extrait éthanolique, 88% par l'huile, 82% par l'extrait méthanolique, et 76% par l'extrait acétonique à 100%.
- De 84% par l'extrait éthanolique, 78% par l'huile, 72% par l'extrait méthanolique et 66.5% par l'extrait acétonique à 50%.
- Et de 78% par l'extrait éthanolique, 70% par l'huile, 64.5% par l'extrait méthanolique et 54.9% par l'extrait acétonique à 25%.

D'après les analyses, l'effet de l'extrait éthanolique à 100% est presque similaire à celui des anticoccidiens ce qui montre que ces derniers peuvent être remplacé par cet extrait qui est purement naturel, l'effet de l'huile est aussi pas négligeable.

On constate également que les quatre extraits à 50 et 25% ont un effet aussi important sur les oocystes d'*Eimeria sp* où ils détruisent plus que la moitié des oocystes (LC50) mais ça reste moins par rapport à ceux de 100% surtout pour l'extrait méthanolique et acétonique. Cette action est probablement due aux acides gras insaturés qui ont un effet positif dans la lutte contre les maladies parasitaires, et en particulier les coccidioses aviaires caecales. Ainsi, lors d'infection par *E.tenella*, l'huile entraîne une réduction des lésions, un retard de développement du parasite (Allen *et al.*, 1996), et parfois un meilleur gain de poids (Korveret *al.*,1997).

La spiruline qui est considérée comme une excellente source de sélénium (Cases, 1999) qui est à son tour permet d'assurer l'augmentation de la réponse immunitaire spécifique des poulets et la stimulation du mécanisme de défense contre une infection primaire. Il a aussi un effet bénéfique dans la lutte contre les coccidioses hémorragiques. Ainsi que l'apport de sélénium diminue la chute de gain de poids d'animaux immunisés, lors d'une forte ré-infection avec *E. tenella* (Colnago et al 1984a).

Le cuivre comme l'un des principaux oligoéléments dans la spiruline entraîne une diminution de la mortalité lors d'une infection par *E. tenella*. Ceci peut être dû à l'action inhibitrice de ce minéral sur la trypsine qui intervient dans l'excystation des sporozoïtes. (Zucker et al 1967).

Comme on déduit que la LC50 des quatre extraits est à 25% à une concentration de 0.05g/ml, ce qui est énorme et assure l'efficacité de cette micro-algue contre la coccidiose et même à faible dose.

En effet, le nombre d'oocystes dans l'échantillon testé avec les solvants est approximativement identique à celui du témoin ce qui explique que les solvants n'ont aucun effet sur la destruction des oocystes.

b. Echantillon intestinal

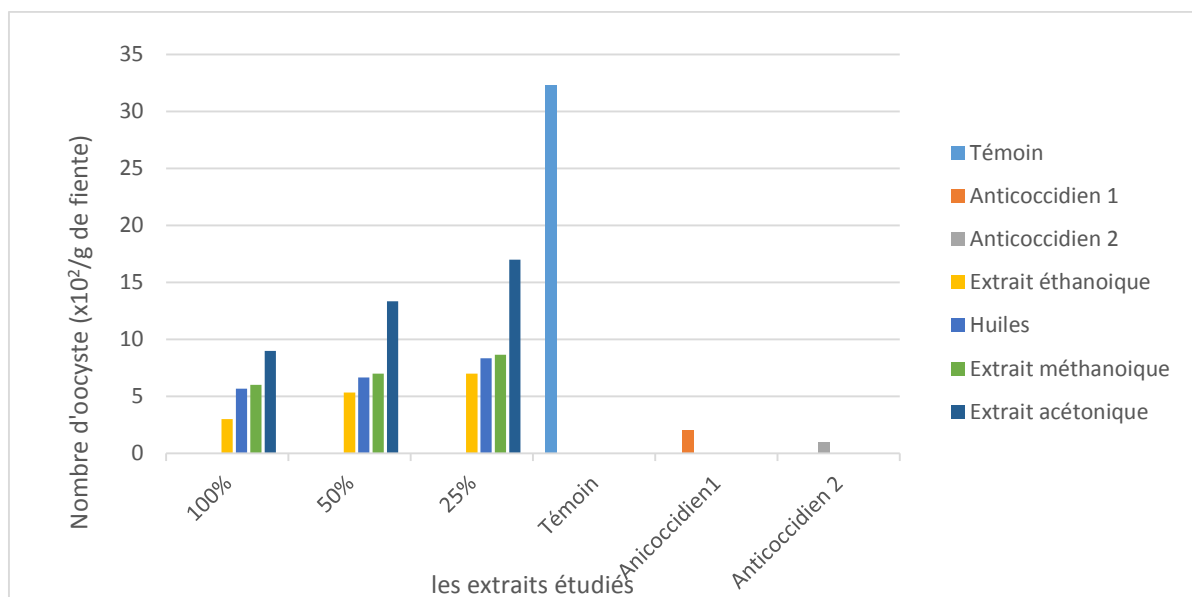


Figure 51 : Effets des extraits d'*Arthrospira plantensis* et des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes dans la matière fécale intestinale (*Eimeria sp.*).

Les résultats ont montré que le nombre des oocystes d'*Eimeria sp* a été réduit par tous les extraits testé surtout l'extrait éthanolique de la spiruline à 100% où on trouve des résultats presque similaire que celles des résultats d'effet des anticoccidiens suivi d'une efficacité par l'huile à 100%, l'extrait méthanolique à 100% et en dernier l'extrait acétonique à 100%. Les vitamines est plus particulièrement la vitamine K, A et B agissent par l'intermédiaire de la flore intestinale et renforcent la réponse du système immunitaire de l'animal. L'alimentation peut intervenir sur l'intégrité de la muqueuse intestinale soit par une action antihémorragique.

On remarque aussi que les extraits testés ont un effet remarquable à 100% par rapport à 50 et 25% ou l'effet reste toujours important mais un peu plus moins par rapport à 100% où l'effet était maximal.

En effet, la proportion des oocystes détruites en comparaison avec le témoin est de :

- De 98% par l'extrait éthanolique, 91% par l'huile, 90% par l'extrait méthanolique, et 84.2% par l'extrait acétonique à 100%.
- De 91.5% par l'extrait éthanolique, 89% par l'huile, 88.2% par l'extrait méthanolique et 75.7% par l'extrait acétonique à 50%.
- Et de 88% par l'extrait éthanolique, 85.6% par l'huile, 85% par l'extrait méthanolique et 73.2% par l'extrait acétonique à 25%.

On remarque que l'extrait éthanolique à 100% donne un résultat supérieur à celui de l'anticoccidien 1 et similaire à l'anticoccidien 2, ce qui permet à la spiruline d'être un véritable alternatif aux anticoccidiens. Avec des avantages qui agissent positivement sur l'animal et le consommateur.

Comme on déduit que la LC50 de l'extraits éthanolique, méthanolique et l'huile est à 25% à une concentration de 0.05g/ml et de l'extrait acétonique est à 50% à une concentration de 0.1g/ml.

4.3.3. L'effet des extraits de la spiruline sur le nombre des oocystes et la libération des substances absorbants à 273nm

➤ Résultats

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau suivant

Tableau 20 : nombre d'oocystes trouvant dans la matière fécale caecale et intestinale avec chaque extrait et leurs différent absorbance.

Les extraits	Nombre d'oocystes (x10 oocystes /1g de fiente)	Absorbance à 273 nm	Nombre d'oocystes (x10 ² oocystes/1g de MFC)	Absorbance à 273 nm
Extrait éthanolique 100%	3+/-0	2.902+/-0.010	2.3+/-0.6	0.774+/-0.004
Extrait éthanolique 50%	5.33	2.644+/-0.012	10+/-0	0.484+/-0.005
Extrait éthanolique 25%	7+/-0	2.462+/-0.012	14.3+/-0.6	0.238+/-0.003
Huile 100%	5.66+/-0.47	2.649+/-0.035	9+/-0	0.535+/-0.002
Huile 50%	6.66+/-0.47	2.397 +/-0.007	13+/-0	0.321+/-0.001
Huile 25%	9+/-0.8	2.290+/-0.022	18+/-0	0.215+/-0.004
Extrait méthanolique 100%	6+/-0	2.602+/-0.014	11.3+/-0	0.440+/-0.005
Extrait méthanolique 50%	7+/-0	2.335+/-0.014	16.3+/-0	0.223+/-0.001
Extrait méthanolique 25%	8.66+/-0.9	2.271+/-0.004	32.66+/-0	0.104+/-0.003
Extrait Acétonique 100%	9+/-0	1.386+/-0.006	18.3+/-0.6	0.211+/-0.001
Extrait acétonique 50%	13.33+/-0.9	1.276+/-0.008	20.3+/-0.6	0.201+/-0.002
Extrait acétonique 25%	17+/-0	1.186+/-0.003	34.33+/-1.5	0.094+/-0.005
Anticoccidien 1	2+/-0	2.883+/-0.001	1+/-0	1.010+/-0.002
Anticoccidien 2	1+/-0	2.946+/-0.007	2+/-0	0.801+/-0.002
La charge initiale	32.33	0.890+/-0.004	50.7+/-1.2	0.082+/-0.001

➤ **Discussion**

a. Echantillon caecal

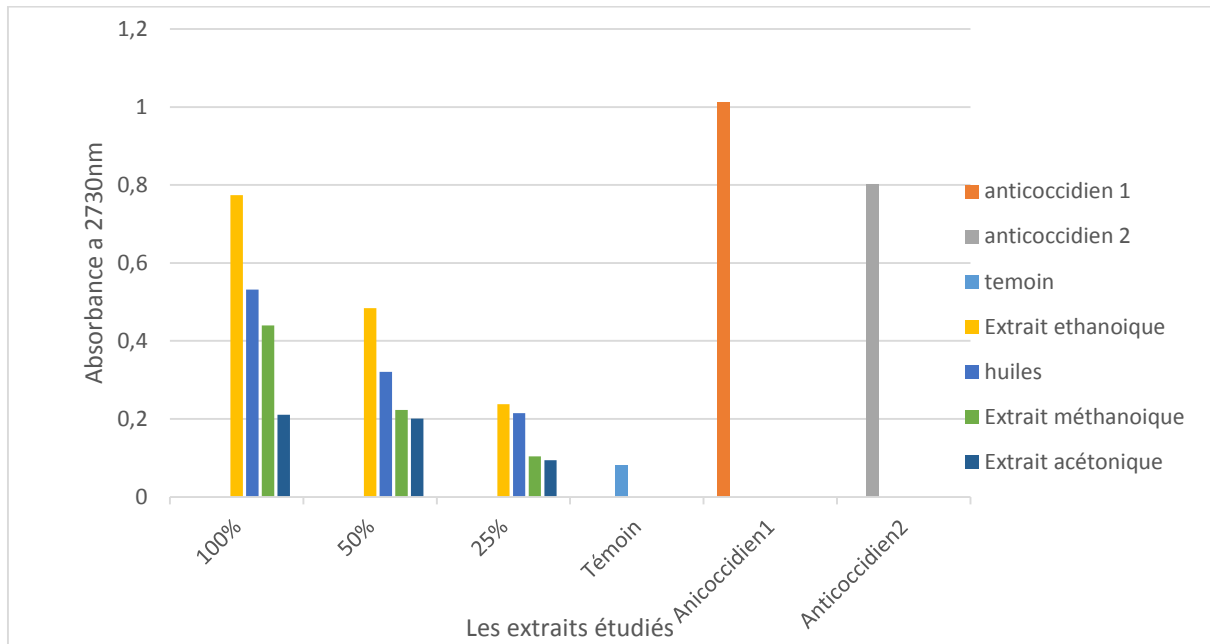


Figure 52 : l'absorbance des matériaux cellulaires libéré par les oocystes (*Eimeria sp*) dans la matière fécale caecale.

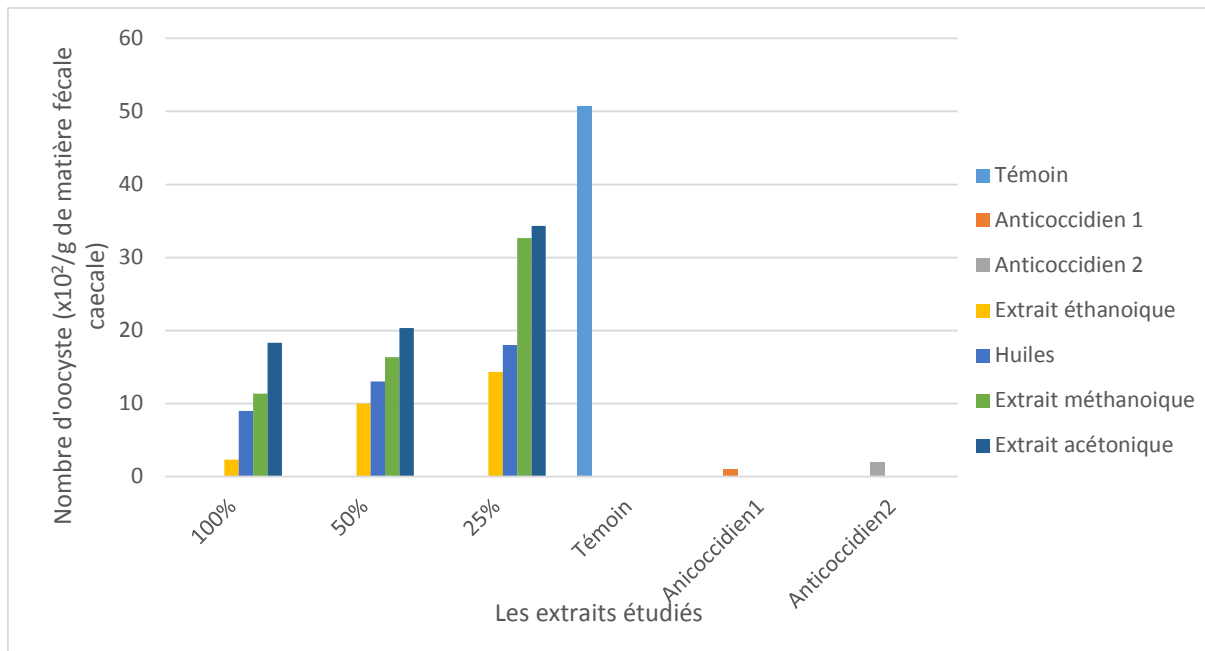


Figure 53 : Effets des extraits d'*Arthrospira plantensis* comparés aux anticoccidiens sur le nombre d'oocystes dans la matière fécale caecale (*Eimeria sp*).

L'effet anticoccidien des quatre extraits de la spiruline a été également étudié par une méthode en tubes contenant le tampon PBS. Cette technique permet de révéler l'action lytique des différents traitements sur *Eimeria sp* en mesurant l'absorbance des matériaux cellulaires libérés par les oocystes détruits ou lysés.

Selon l'allure des représentations graphiques de l'absorbance et le nombre d'oocyste restant (figure 52,53, tableau 20), les extraits éthanolique, méthanolique, acétonique et l'huile à 100, 50 et 25% provoquent une réduction du nombre d'oocystes d'*Eimeria sp* mais à des proportions différentes ainsi qu'une importante libération de matériaux cellulaires absorbants à 273nm, de manière linéaire et proportionnelle à leur concentration (0.05, 0.1 et 0.2 g/ml).

Le traitement qui a révélé un important effet coccidiocide est l'extrait éthanolique à 100% avec une proportion de 95.5% d'oocystes détruites, suivie par l'extrait d'huile à 100% avec une proportion de 82%, de l'extrait méthanolique à 100% avec une proportion de 77.7% et de l'extrait acétonique avec une proportion de 63.9% à 100% d'oocyste détruites, ainsi que l'action lytique est plus évidente avec une augmentation de la libération des matériaux cellulaires (tableau 20).

On note également que la concentration 0.05g/ml et 0.1 g/ml (25 et 50%) des différents extraits est aussi important pour induire un effet coccidiostatique ou coccidiocide par rapport au témoin mais moins important que celui de 0.2g/ml (100%) (Figure 52,52 Tableau 20) avec une diminution légère de la libération des matériaux cellulaires.

On déduit que la LC50 de l'extrait éthanolique et l'huile est à 25% à une concentration de 0.05g/l et celle de l'extrait méthanolique et acétonique est à 50% à une concentration de 0.1g/l

De plus, on remarque que la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime(VETACOX) et Toltrazuril (Baycox ND) utilisée comme anticoccidien ont provoqué une diminution de 98% et 96% d'oocystes à une concentration de 0.05g/ml et 0,1 g/ml ; son potentiel anticoccidien est plus important que les autres extraits (Figure 52,53).

On remarque aussi que l'effet de l'extrait éthanolique est similaire à l'un des anticoccidien ce qui montre son pouvoir coccidiocide comme il peut être un alternatif naturel à cet anticoccidien.

b. Echantillon intestinal

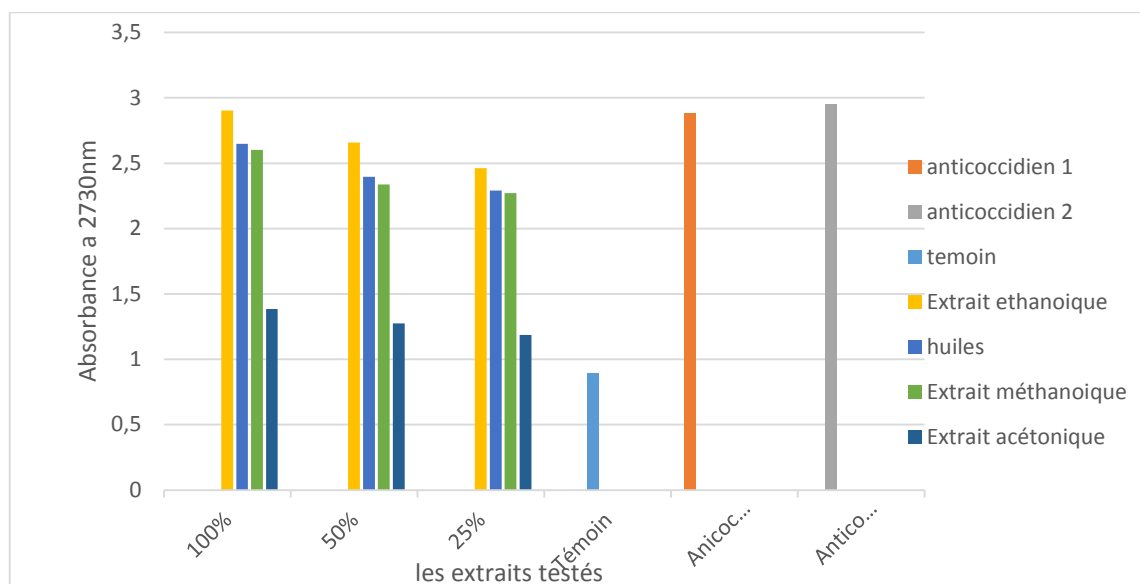


Figure 54 : l'absorbance des matériaux cellulaires libéré par les oocystes (*Eimeria sp*) dans la matière fécale intestinale.

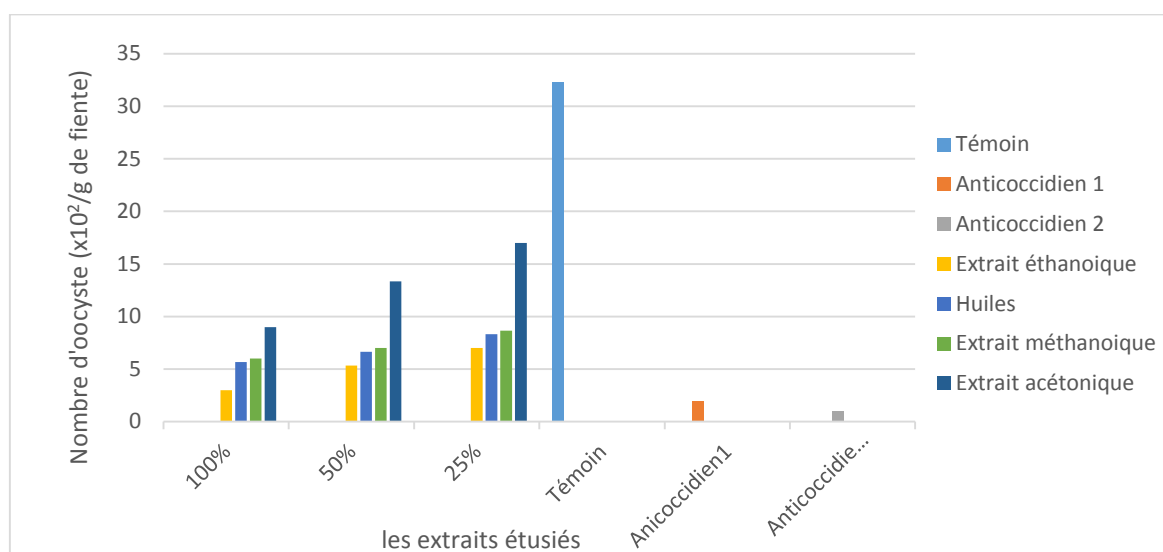


Figure 55 : Effets des extraits d'*Arthrospira plantensis* et des anticoccidiens sur le nombre d'oocystes (*Eimeria sp*) dans la matière fécale intestinale.

L'effet anticoccidien des quatre extraits de la spiruline a été également étudié par une méthode en tubes contenant le tampon PBS. Cette technique permet de révéler l'action lytique des différents traitements sur *Eimeria sp* en mesurant l'absorbance des matériaux cellulaires libérés par les oocystes détruits ou lysés.

Selon l'allure des représentations graphiques de l'absorbance et le nombre d'oocyste restant (Figure 54.55, tableau 20), les extraits éthanoloïque, méthanoïque, acétonique et

l'huile à 100, 50 et 25% provoquent une réduction du nombre d'oocystes d'*Eimeria sp* mais à des proportions différentes ainsi qu'une importante libération de matériaux cellulaires absorbants à 273nm, de manière linéaire et proportionnelle à leur concentration (0.05, 0.1 et 0.2 g/ml).

Le traitement qui a révélé un important effet coccidiocide est l'extrait éthanolique à 100% avec une proportion de 90.8% d'oocystes détruites, suivie par l'extrait d'huile à 100% avec une proportion de 82.5%, de l'extrait méthanolique à 100% avec une proportion de 81.4% et de l'extrait acétonique avec une proportion de 72.2% à 100% d'oocyste détruites, ainsi que l'action lytique est plus évidente avec une augmentation de la libération des matériaux cellulaires (tableau 20). Ce qui est peut être due à La vitamine A est bénéfique contre les coccidioses en agissant positivement sur l'intégralité des muqueuses et renforce la réponse immunitaire (Dalloul et al., 2000) ainsi que Sharma et al (1973) observent une diminution du nombre d'oocystes excrétés lors d'une infection par *E.acervelina* lorsque le régime contient 16 % ou 20 % de protéines.

On note également que la concentration 0.05g/ml et 0.1 g/ml (25 et 50%) des différents extraits est aussi important pour induire un effet coccidiostatique ou coccidiocide par rapport au témoin mais moins important que celui de 0.2g/ml (100%) (Figure 54,55 Tableau 20) avec une diminution légère de la libération des matériaux cellulaires.

On déduit aussi que la LC50 de l'extrait éthanolique, méthanolique et l'huile est à 25% à une concentration de 0.05g/l et celle de l'extrait acétonique est à 50% à une concentration de 0.1g/l.

De plus, on remarque que la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime(VETACOX) et Toltrazuril (Baycox ND) et utilisées comme anticoccidiens ont provoqué une diminution de 93.8% et 96.9% d'oocystes à une concentration de 0.05g/ml et 0,1 g/ml ; son potentiel anticoccidien est plus important que les autres extraits (Figure 54,55).

4.3.4. Comparaison entre les deux techniques

Les résultats de l'effet anticoccidien des différents extraits obtenus par les deux techniques en microplaque et en tubes sont comparables, avec des valeurs presque similaires avec tous les extraits testés (tableau 19 et 20).

De plus, les deux techniques confirment un fort potentiel anticoccidien de tous les extraits de la spiruline surtout l'extrait éthanolique et l'huile à 100 et 50% avec des proportions d'oocystes détruits de :

a. Echantillon caecal

(96% à 0.2g/ml et 84% à 0.1g/ml) et (88% à 0.2g/ml et 78% à 0.1g/ml) / (95.5% à 0.2g/ml et 80% à 0.1g/ml) et (82% à 0.1g/ml et 74.4% à 0.1g/ml) respectivement dans la première et seconde technique.

b. Echantillon intestinal

(98% à 0.2g/ml et 91.5% à 0.1g/ml) et (91% à 0.2g/ml et 89% à 0.1g/ml) (90.8% à 0.2g/ml et 83.5% à 0.1g/ml) et (82.5% à 0.1g/ml et 79.4% à 0.1g/ml) respectivement dans la première et seconde technique.

Cependant, l'effet anticoccidien de la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime (VETACOX) et Toltrazuril (Baycox ND) à concentration de 0.05 et 0.1 g/ml ont prononcé l'effet le plus élevé comparé aux extraits testés ce qui a provoqué une forte destruction des oocystes jusqu'à 99% et 97% d'oocystes détruites pour l'échantillon caecal, 95% et 98% pour l'échantillon intestinal.

Discussion générale

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne, anticoccidienne des extraits de la Spiruline : Extrait brut éthanolique, méthanolique, acétonique et l'huile, sur dix souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli*, *Entérobacter sp*, *Proteus mirabilis*, *S.typhi*, *S.typhimirium*, *S.enteritidis*, *S.gallinarum*. *Peudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* qui sont responsable de plusieurs infections chez l'homme et les animaux ainsi que *Eimeria sp* responsable de la coccidiose aviaire.

Après l'analyse de nos résultats, il ressort que toutes les souches bactériennes étudiées ont une sensibilité intermédiaire (10 à 16 mm) vis-à-vis les trois extrait bruts, sauf *Entérobacter sp* avec un diamètre d'inhibition de (19±0 mm).

D'après (**Moreda, 2007**) si le diamètre critique d'inhibition est supérieur à 18 mm, la souche bactérienne est dite sensible, si le diamètre est compris entre 10 et 18 mm la bactérie est dite sensibilité intermédiaire, par contre si le diamètre critique d'inhibition est inférieur à 10 mm la souche bactérienne est dite résistante, donc on peut dire que *Entérobacter sp* est totalement sensible à l'extrait éthanolique avec un diamètre de 19 mm supérieur au diamètre critique.

On note aussi que la plupart des antibiotiques utilisés ont une action spécifique sur la paroi bactérienne, ce qui explique la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis les extraits de la spiruline qui ont peut-être le même mode d'action ce qui permis leur pénétration dans le cytoplasme et d'agir sur elle surtout pour les bactéries gram négatif ou la paroi est fine et facile à pénétrer à celle des grams positifs (**Fauchère and Avril, 2002**).

Les extraits obtenus par l'éthanol et le méthanol révèlent une action inhibitrice efficace pour la majorité des souches, elle est nettement visible sur toutes les souches bactériennes sauf *Listeriai monocytogène* qui a montré une résistance vis-à-vis l'extrait éthanolique.

L'extrait acétonique n'a donné aucun effet sauf sur *S.typhi*, *S.typhimirum* et *S.gallinarum*, l'activité antibactérienne en ce qui concerne l'acétone est nettement plus faible que celle obtenue avec l'éthanol et le méthanol où les résultats obtenus étaient positifs et l'effet était actif par rapport aux antibiotiques testés. Ce qui explique l'efficacité de l'extrait bruts d'*Arthrospira plantensis* extraites par l'éthanol et le méthanol. Pour ce qui est de l'huile, l'activité antibactérienne est totalement nulle.

Selon des essais et les résultats obtenus par **Mouri et Maachou en 2009** sur *E.coli* ont montré avec la mélisse un diamètre d'inhibition de 11.67 mm, pour *P. aeruginosa* ont montrés une résistance vis-à-vis de tous les extraits de plantes testées, sauf le gingembre (9.67 mm) et sur *S.aureus* la menthe poivrée a donné les meilleurs résultats avec un diamètre d'inhibition de 10.5 mm. Ce qui rend notre étude plus efficace vis-à-vis l'activité antibactérienne en utilisant les différents extraits de la spiruline.

Les résultats de différents extraits de spiruline sur diverses bactéries ne permettent pas de définir une substance antibactérienne particulière mais un spectre d'action antibactérienne qui serait un support pour démontrer le potentiel en termes d'activités antibactérienne de cette cyanobactérie (**Kaushik and Chauhan, 2008**).

Par ailleurs on a étudié l'effet anticoccidien de ces extraits par méthode de microplaque, nous avons notés que l'extrait éthanolique et l'huile ont un effet remarquable sur le genre *Eimeria sp* presque semblable à celui de l'effet des anticoccidiens, cette action est probablement due aux acides gras insaturés qui ont un effet positif dans la lutte contre les maladies parasitaires, et en particulier les coccidioses aviaires caecales Ainsi, lors d'infection par *E.tenella*, l'huile entraîne une réduction des lésions, un retard de développement du parasite (**Allen et al., 1996**), et parfois un meilleur gain de poids (**Korveret al., 1997**).

La vitamine A est bénéfique contre les coccidioses en agissant positivement sur l'intégralité des muqueuses et renforce la réponse immunitaire (**Dalloul et al., 2000**).

Les polysaccharides empêchent l'adhésion des organismes pathogènes, et par leur action immunostimulante de l'immunité innée augmente l'activité phagocytaire des macrophages, des granulocytes et la cytotoxicité des cellules Natural Killer. Ils augmentent la production des médiateurs de l'inflammation.

Les facteurs alimentaires de la spiruline peuvent contribuer à la lutte contre les coccidioses en freinant le développement du parasite, en diminuant ses effets pathogènes ou en améliorant les défenses de l'hôte.

Outre, l'effet anticoccidien des extraits de la spiruline a été également étudié par une méthode en tubes contenant le tampon PBS. Cette technique permet de révéler l'action lytique des différents traitements sur *Eimeria sp* en mesurant l'absorbance des matériaux cellulaires libérés par les oocystes détruits ou lysés.

Selon les résultats obtenus pour les deux échantillons caecal et intestinal, les extraits de la spiruline provoquent une réduction du nombre des oocystes d'*Eimeria sp.*, ainsi qu'une importante libération de matériaux cellulaires absorbants à 273nm.

Les résultats de l'effet anticoccidien des différents extraits de la spiruline obtenus par les deux techniques en microplaque et en tubes sont complémentaires, avec des valeurs presque similaires, l'extrait brut dilué par l'eau distillée utilisé dans les epindorff a montré un effet antibactérien plus faible que celui de l'extrait brut dilué par les différents solvant utilisé dans la microplaque.

De plus, les deux techniques confirment le grand potentiel anticoccidien des extraits de la spiruline surtout l'extrait éthanolique et l'huile puis l'extrait méthanolique et acétonique.

Les anticoccidiens de type antibiotique, globalement les plus utilisés, pourraient être remis en question. Des alternatives à l'utilisation de ces molécules doivent donc être trouvées. Parmi celles-ci on peut citer : la spiruline comme supplément alimentaire.

Les fibres ont des effets aggravants lors d'infection par *E. tenella*. Des aliments riches en fibres (10 % au lieu de 6,5 %) entraînent des coccidioses caecales aiguës, avec des hémorragies et des mortalités, un problème qui n'est pas posé lors de la prise de la spiruline qui ne contient pas de fibres.

Selon nos résultats la spiruline peut être un véritable alternatif aux antibiotiques tel que la Fluméquine, l'Amoxicilline, la Tétracycline, la Ticarcyline et l'Erythromycine ainsi aux anti coccidiens et ce remplacement va régler une multitude de problèmes tel que la résistance bactérienne et parasitaire vis-à-vis les antibiotiques , les problèmes de toxicité que provoque les anticoccidiens et les effets secondaires chez l'homme ainsi de diminuer le cout économique surtout afin d'éliminer la période d'attente qui est nécessaire durant la prise des médicaments pour éliminer les résidus de ces derniers.

L'effet de l'alimentation dans la lutte contre la coccidiose aviaire mérite donc un approfondissement, car la diminution de l'utilisation des anticoccidiens de type antibiotique et l'introduction de nouveaux modes d'alimentation auront des conséquences, que l'on devra maîtriser, sur l'état sanitaire des animaux. Ces études devront s'effectuer en parallèle avec les nouvelles méthodes de lutte contre la coccidiose qui s'imposeront à l'avenir telle que la supplémentation de la spiruline à l'alimentation. La recherche d'alternatives à l'utilisation d'anticoccidiens est d'autant plus importante que ceux-ci

permettent actuellement non seulement de lutter contre la coccidiose, mais aussi contre d'autres pathologies digestives comme l'entérite nécrotique qui était maîtrisée jusqu'à présent par l'utilisation d'antibiotiques facteurs de croissance qui sont maintenant interdits en alimentation animale (**Elwinger et al 1998**).

Conclusion générale et recommandation

Un grand nombre d'algues est une source inépuisable des substances bioactives qui possèdent des propriétés biologiques très importantes, on trouve de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, l'agriculture et en cosmétologie. L'étude des propriétés antibactériennes et anticoccidiennes des extraits de *Arthrospira plantensis* nous a permis d'obtenir des résultats intéressants.

La spiruline (*Arthrospira platensis*) est parmi les algues qui peuvent être introduites en alimentation humaine et animale grâce à leurs propriétés thérapeutiques et sa valeur nutritionnelle.

Selon nos résultats les extraits de *Arthrospira plantensis* ont un effet anticoccidien très proche à celui des anticoccidiens prescrits par les vétérinaires en aviculture grâce à sa richesse en acides gras essentiels.

Notre étude confirme qu'en plus de son effet nutritionnel pour les animaux et les humains, la supplémentation alimentaire en spiruline peut être recommandée comme traitement anti-parasitaire et anti-microbien en vue de son activité inhibitrice des oocystes d'*Eimeria* et son inhibition de l'activité bactérienne. Cela peut être attribué à leur richesse en composés biologiquement actifs.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Compte tenu des résultats intéressants obtenus, il paraît d'une grande utilité de poursuivre la présente étude tout en touchant, dans le futur, à différents axes dans le but d'approfondir les connaissances scientifiques et technologiques et par conséquent contribuer à tirer plus d'informations et de renseignements mettant au clair le rôle alimentaire et sanitaire de

La spiruline qui est de nos jours commercialisée et facilement cultivable.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Alors, nous envisageons entreprendre les différentes activités de recherche suivantes :

- Culture de spiruline dans des bassins à grande échelle.
- Application de la spiruline comme un agent liant dans l'industrie pharmaceutique.
- Utilisation de différentes substances bioactives de la spiruline dans les différentes productions alimentaires et pharmaceutiques.

Références bibliographiques

A

- **AFAA (1982)** Association Française pour l'Algologie Appliquée Actes du premier
- **Alain Dublanche** *Des Virus pour combattre les Infections*, Favre, 2009
- **Alamargot J, 1982.** L'appareil digestif et ses annexes. Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires. Le point vétérinaire, 15-32.
- **Annapurna V. et al. (1991)** Bioavailability of spirulina carotenes in preschool children J. Clin. Biochem Nutrition. 10 145-151.
- **Anon.2000.**Opinion of the scientific committee on Veterinary Measures relating to Public Health.Food-borne zoonoses: Salmonella spp, 24-27+ annex I.b, 86-100.European commission, Health and Consumer Protection.
- **AvriteJ.I, D.abernat, Denis.F., 1992.**Bactériologie chimique ; 2dition ellipses, Anzai, etal, Kim, H ; park, JY ; wakabaya
- **Azzag N, 2001.** Isolation and characterisation of common Eimeria species of chickens in Jordan. Jordan University of science and technology, (Magister Amman).
- **Balloni W., Tomasselli S., Giovannetti and Margheri M. C. (1980)** Biologia fondamentale del genera Spirulina, in Materassi R. (ed) Prospective della coltura di Spirulina in Italia. Consilio Nazionale delle Ricerche, Rome: 49-85

B

- **Baltazart A, 2010.** Propriétés physiques, chimiques, biologiques et nutritives des litières en élevage de volailles. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil.
- **Banfield MJ and Forbes JM, 1999.** Feed content and structure effects on coccidiosis in broilers. World poultry, Elsevier special.
- **Baojiang G. et al. (1994)** Study on effect and mechanism of polysaccharides of spirulina on body immune function improvement Proc. of Second Asia Pacific Conf. on Algal Biotech. Univ. of Malaysia. pp 33-38
- **Barnes, E. 1982.** Salmonella colonisation of the chick. *Poult.World*, 135, 21
- **Beghoul S, 2006.** Appareil digestif de la poule : particularités anatomo-physiologiques. Département des sciences vétérinaires - Université Mentouri de

Constantine - Algérie - Magister en médecine vétérinaire Option pathologies - Spécialité aviculture et pathologies aviaires.

- **Bernard.J et Alain.R.2002.** Entérobactéries –systématiques et méthodes de diagnostic-paris : Tec et doc ; cachan, Ed.Médicales internationales, p28
- **Biorigin (2006)** Documentation Biorigin pour "Azina" et "Ferrina", spiruline enrichie en zinc ou en fer.
- **Bisimwa .C, 2003.** Les principales races en aviculture. Troupeaux et Cultures des Tropiques, 4-8.
- **Bohn.C et al mars 2010.**^^Experimental discovery of small RNA sin Staphylococcus aureus reveals a riboregular of central metabolism^^
- **Boka MO, 2006.** Evaluation de l'effet des anticoccidiens ionophores sur les performances zootechniques des poulets de chair en élevage semi-industriel. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires (E.I.S.M.V.), faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.
- **Bonnet R., Sirot D., Chanal C.1994.**Diversity of TEM mutants in proteus mirabilis.
- **Borchers AT, Belay A, Keen CL, Gershwin ME (2007)** Spirulina and Immunity in In Gershwin & Belay (ed.) Spirulina in Human Nutrition and Health : 177-193.
- **Borowitzka MA, Borowitzka LJ (1988)** Micro-Algal biotechnology. New York: Cambridge University Press.
- **Boudène C., Collas E. et Jenkins C. (1975)** Recherche et dosage de divers toxiques minéraux dans les algues spirulines de différentes origines, et évaluation de la toxicité a long terme chez le rat d'un lot d'algues spirulines de provenance mexicaine Ann. Nutr. Aliment. 29, 577-587.
- **Bouhelier BMB, 2005.** Prévalence des coccidies en élevage de poulets sous label rouge du Gers, étude expérimentale. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- **Buagnicont F.1995.**Laboratoire d'analyse biochimique, le cahier des techniques de l'INRH pp23, 97.
- **Bujard-E, U. Braco-U, Mauron-J, Mottu-F, Nabholz-A, Wuhrmann-JJ & Clément-G(1970).** Composition and Nutritive Value of Blue Green Algae (Spirulina) and their Possible Use in Food Formulations 3rd.international Congress of Food Science and Technology, Washington 1970.

- **BULL.** Inst. Océano. Monaco, numéro spécial 12, pages 49-57.
- **Bussieras J and Chenette R, 1992.** Parasitologie vétérinaire, protozoologie. Edité par le service de parasitologie, ENV d'Alfort.
- **Campanella L, Crescentini G, Avino P (1999)** Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on Spirulina. *Analisis* 27: 533-540.
- **Careri M, Furlattini L, Mangia A, Musci M, Anklam E, Theobald A, von Holst C. (2001)** Supercritical fluid extraction for liquid chromatographic determination of carotenoids in Spirulina Pacifica algae: a chemometric approach. *J Chromatography A* 912: 61-71.
- **Cases J, Vacchina V, Napolitano A, Caporiccio B, Besancon P, Lobinski R, Rouanet JM. (2001)** Selenium from selenium-rich Spirulina is less bioavailable than selenium from sodium selenite and selenomethionine in selenium-deficient rats. *J Nutr.* 131(9):2343-50.
- **Cases J, Wysocka IA, Caporiccio B, Jouy N, Besancon P, Szpunar J, Rouanet JM. (2002)** Assessment of selenium bioavailability from high-selenium spirulina subfractions in selenium-deficient rats. *J Agric Food Chem.*19;50(13):3867-73.
- **Cases J., Puig M., Caporiccio B., Baroux B., Baccou J.-C., Besancon P., Rouanet J.-M. (1999)** Glutathione-related enzymic activities in rats receiving high cholesterol or standard diets supplemented with two forms of selenium *Food Chemistry*, Volume 65, Number 2, pp. 207-211(5)

C

- **Castenholz RW, Rippka R, Herdman M, Wilmotte A (2001)** Form-genus I. *Arthrospira* Stizenberger 1852. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (D. R. Boone & R.W. Castenholz, eds.) 1: 542-543
- **Centre de santé St-Joseph, Hamilton, 2010.**PD 7348 - 09/2010 dpc/pted/Listeria-th.doc dt/9 septembre 2010
- **Challem JJ, Passwater RA, Mindell EM (1981)** Spirulina. Keats Publishing, Inc. New Canaan, Connecticut.
- **CHARPY.I, LANGLADE .M.J et ALLIOD.R., 2008** « La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et Le développement en Afrique », institut de Recherche le développement, Marseille, page10.

- **Chen H. et Pan S. (2005)** Bioremediation potential of spirulina: toxicity and biosorption studies of lead J Zhejiang Univ SCI 2005 6B(3):171-174.
- **Chermette, Bussiera.S.** Parasitologie Vétérinaire vol II : Protozoologie Imprimerie du cercle des Elèves ENVA-1992, 42-58 et 160-168
- **Cifferi O.(1983)** Spirulina, the edible microorganism Microbiology Revue 47, 551-57.
- **Clément G, Giddey C, Menzi R (1967)** Amino acid composition and nutritive value of the alga Spirulina maxima. Journal of the Science of Food and Agriculture 18: 497-501.
- **CLEMENT G., 1975**-Production et constituants caractéristiques des algues Spirulina maxima et platensis. Ann. Nutr. Aliment. 29(6), pages 477-487.
- **Cogne G., Lehmann B., Dussap CG., Gros JB (2002)** Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium Spirulina platensis under photoautotrophic conditions: Culture medium optimization Biotechnology and Bioengineering Volume 81, Issue 5 , Pages 588 – 593.
- **Cohen Z. (1997)** Chemicals from Spirulina in "Spirulina platensis : Physiology, cell-biology and biotechnology" Ed. A. Vonshak, Taylor & Francis Ltd 1997
- **Colla LM, Bertolin TE, Costa JA. (2004)** Fatty acids profile of Spirulina platensis grown under different temperatures and nitrogen concentrations. Z Naturforsch [C]. 59(1-2):55-9.
- **Conway DP and McKenzie ME, 2007.** Poultry Coccidiosis: Diagnostic and Testing Procedures. Blackwell Publishing Professional. Third Ed, 1-138.
- **Costa JAV, Colla LM, Duarte P, Kabke K, Weber A (2002)** Modelling of Spirulina platensis growth in fresh water using response surface methodology. World Journal of Microbiology and Biotechnology 18: 603-607.

D

- **Degbey H., Boureima H. et Oumarou H. (2004)** Evaluation de l'efficacité de la supplémentation en spiruline du régime habituel des enfants atteints de malnutrition sévère Colloque international « Les Cyanobactéries pour la Santé, la Science et le Développement » Île des Embiez 3-6 mai 2004
- **Denbow, D. M. 1999,** "Gastrointestinal anatomy and physiology," *In Sturkie's Avian Physiology*, Academic Press ed. San Diego: pp. 299-325.
- **Donneberg M.S. and Kaper J.B, 1992.** Entéropathogénic Escherichia.coli. Infect.Immun.Go.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Durand-Chastel (1999)** Production of Spirulina biomass rich in gamma-linolenic acid and sulfolipids Marine Cyanobacteria NS19 (dissem.), pp. 541-546 in Bull. Inst. océanogr. (Monaco).
- **Duszynski DW, Upton SJ, and Couch L, 2000.** The coccidia of galliformes (chicken pathridge peacock,pheasant, quail, turkey). Supported by NSF-PEET DEB.

E

- **Earthrise Farms Spirulina (1986)** Product Typical Analysis Earthrise Farms Spirulina, San Rafael, USA.
- **Eckman MK, 1995.** Prevention and control of avian coccidiosis. XIV latin American poultry congress,Santiago chile.
- **Erener, G., Altop, A., Okak, N., Aksoy, H.M., Cankaya, S., & Ozturk, E. 2010.** Influence of black cumin seed (*Nigella sativa L.*) and seed extract on broilers performance and total coliform bacteria count. *Asian J.Anim.Vet.Adv.*, 5, 128-135
- **Euzeby J, 1973.** Immunologie des coccidioses de la poule. Cah. Méd. Vét, 42, 3-40.
- **Euzeby J, 1987.** Protozoologie médicale comparée. Collection fondation Marcel Merieux.
- **Evets L., et al. (1994)** Means to normalize the levels of immunoglobulin E, using the food supplement Spirulina Grodenski State Medical Univ. Russian Federation Committee of Patents and Trade. Patent (19)RU (11)2005486. Jan. 15, 1994. Russia.

F

- **Falquet J, von der Weid D. (2004)** Spiruline et malnutrition Arch Pediatr. 11(5):465.
- **Fauchere J.L.,Avril J.L.2002.**Bactériologie générale et médicale.Ellipses éditent, Paris, pp 365
- **FLAQUET. J, J.P Hurni., 2006,** spiruline aspects nutritionnelle, Antenna technologie, Genève
- **Folch, J., M. Lees and G.H. Sloane-Stanley, 1957.** A Spiruline Aspects Nutritionnels. Antenna simple method for isolation and purification of total Technologies, pp: 41. lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 226: 497-50
- **Fox R.D. (1980)** Algoculture : la spiruline Edisud 1980.
- **Fredrickson J, Zacharal J, Bilwilld, at al, 2004,** ^^Geomicvobiologie on high-level nuclear waste-contaminated vedose sediments ey the Hanford site, Washington state^^,p4230

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Fritzsche B and Gerriet E, 1965.** Maladies des volailles. Vigot frères éditeurs, Paris.
- **Fuller, R. 1984.** Microbial activity in the alimentary tract of birds. *Proc.Nutr.Soc.*, 43, (1) 55-61
- **Fuller, R. 1989.** Probiotics in man and animals. *J.Appl.Bacteriol.*, 66, (5) 365-378.

G

- **Gabriel, I., Mallet, S., & Sibille, P. 2005.** La microflore digestive des volailles : facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA.Prod.Anim.*, 18, (5) 309-322
- Gadoud R, Joseph MM, Jussiau R, Lisberney MJ, Mangeol B, Montmeas L and Tarrit A, 1992. Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. Paris.
- **Geitler L (1932)** Cyanophyceae. In : Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz. Kolkwits R. (Eds.) Leipzig Germany : Akademische Verlagsgesellschaft. 14.
- **Gireesh T., Jayadeep A., Rajasekharan K. N., Menon V. P., Vairamany M., Tang G., Nair P. P., Sudhakaran P. R. (2001)** Production of deuterated β -carotene by metabolic labelling of *Spirulina platensis* *Biotechnol. lett.* vol. 23, no6, pp. 447-449.
- **Gomez-Coronado DJ, Ibanez E, Ruperez FJ, Barbas C. (2004)** Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. *J Chromatogr A.* 1054(1-2):227-33.
- **Gordon RF, 1979.** Pathologies des volailles. Maloine, Ed SA.
- **Goulet V., Leclercq A., Vaillant V., Le Monnier A., Laurent E., Thierry-Bled F., Pihier N. et De Valk H InVS (2008).** Recrudescence récente des cas de listériose en France. *BEH* 30-31: 268-272.
- **Guentzel MN (1996).** Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter et Proteus. Dans : *Medical Microbiology de Barron* (Barron S et al ., Eds) (édition 4e éd.). University of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1.

H

- **Harrigan GG, Goetz G (2002)** Symbiotic and dietary marine microalgae as a source of bioactive molecules-experience from natural products research. *Journal of Applied Phycology* 14: 103-108.
- **Hattori Y. (2002)** Diseases and Pathophysiology Arising from Biopterin Dysregulation *J. Med. Sci.*22(3): 99-100.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Hau R, (1995)** Vitamin B12 in der Mikroalge *Spirulina platensis* FIT fürs LEBEN 1, 29.
- **Haug A, Thebo P, and G. Mattsson J, 2007.** A simplified protocol for molecular identification of *Eimeria* species in field samples. *Vet. Parasitol*, 146, 35–45.
- **Hayashi H., Havashi T., Morita N. and Kojima I. (1993)** An extract from *Spirulina platensis* is a selective inhibitor of herpes simplex virus Type 1 penetration into HeLa cells. *Phytotherapy Research I*, 76-80.
- **Hayashi K, Hayashi T, Morita N, Kojima I (1993)** An extract from *Spirulina platensis* is a selective inhibitor of herpes simplex virus type 1 penetration into HeLa cells. *Phytotherapy Research 7*: 76-80.
- **Henrikson R (1994)** *Microalga Spirulina, superalimento del futuro.* Barcelona:Ediciones S. A. Urano ISBN 84-7953-047-2.
-
- **Hudson-BJF & Karis-IG (1974)** The Lipids of the Alga *Spirulina* *J. Sci. Fd. Agric.* 25, 759-763.

I

- **INSA (Institut national de la santé animale), 1991.** Les principales maladies des volailles.
- **Isolauri, E., Sutas, Y., Kankaanpaa, P., Arvilommi, H., & Salminen, S. 2001.** Probiotics: effects on immunity. *Am.J.Clin.Nutr.*, 73, (2) 444-450.

J

- **Jaki B, Orjala J, Sticher O (1999)** A novel extracellular diterpenoid with antibacterial activity from the cyanobacterium *Nostoc commune*. *J. Nat. Prod.* 62: 502-503.
- **James R, Sampath K, Thangarathinam R, Vasudevan I (2006)** Effect of dietary spirulina level on growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Israeli Journal Of Aquaculture Bamidgeh* 58: 97-104.
- **Johnson P et Shubert E. (1986)** Availability of iron to rats from spirulina, a blue-green algae *Nutrition Research* 6, 85-94.
- **Jolley WR, Burton SD, and Nyberg PA, 1976.** Formation of sulfhydryl groups in the of *Eimeria stiedai* and *Eimeria tenella* oocysts subjected to in vitro excystation. *J. Parasitol*, 62, 2, 199-202.

- **Kabay M, 1996.** Coccidiosis in poultry. Animal health laboratories. South Perth western Australia.
- **Kapoor R, Mehta U (1993b)** Iron status and growth of rats fed different dietary iron sources. *Plant Foods Hum Nutr* 44:29-34.
- **KaushikP and Chauhan A (2008).**In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian J. Microbiol.*48:348–352.
- **Kelly RJ, Gruner TM, Furlong JM, Sykes AR (2005)** Analysis of corrinoids in ovine tissues. *Biomed Chromatogr*, Volume 20, Issue 8 , Pages 806 - 814
- **Kennedy M, 1996.** Coccidiosis in chicken. Alberta University.
- **Kiet PQ, Durand-Chastel H (2006)** Spirulina rich in AIDS-Antiviral Sulfolipids. In Charpy et al. (ed.) *International Symposium on Cyanobacteria for Health, Science and Development*: 111-117
- **Kim CJ, Yoon SK, Kim HI, Park YH, Oh HM (2006)** Effect of *Spirulina platensis* and probiotics as feed additives on growth of shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 16: 1248-1254.
- **Kondo H., Kolhouse JF. Et Allen H. (1980)** Presence of cobalamin analogues in animal tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* vol. 77, N°2, pp. 817-821

L

- **Lamy LH, 1980.** Technique de base, protozoaires et helminthes parasite, recherche et identification au laboratoire. Maloine SA éditeur.
- **Lan, P.T., Hayashi, H., Sakamoto, M., & Benno, Y. 2002.** Phylogenetic analysis of cecal microbiota in chicken by the use of 16S rDNA clone libraries. *Microbiol.Immunol.*, 46, (6) 371-382
- **Larbier, M. & Leclercq, B. 1994.** *Nutrition et alimentation des volailles*, Edition INRA ed. France.
- **LARGO RAFAEL, JOSE M. Donoso, MARTHA Pruyas.** maladie pulmonaire Proteus. *Rev. Chilena Pediatrics.* VoL 44, N9 4, 1973
- **Le Minore L et Ben Hamida F, 1962,** avantade des beta-galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique, en particulier les entérobactériaceae. *Ann.Inst.Pasteur.*p.102,267-277
- **Le Minore, 1993.** Methode de laboratoire pour l'identification des entérobactéries
- **Leclerc H, Gaillar J-L, SimonetM. 1995,** Mirobiologie générale, la bactérie et monde bactérien. Editeurs paris.

- **Lee J.-B., Hayashi T., Hayashi K., Sankawa U. (2000)** Structural Analysis of Calcium Spirulan (Ca-SP)-Derived Oligosaccharides Using Electrospray Ionization Mass Spectrometry *J. Nat. Prod.*, 63 (1), 136 -138.
- **Lee J.-B., Hayashi T., Hayashi K., Sankawa U., Maeda M., Nemoto T., Nakanishi H. (1998)** Further purification and structural analysis of calcium spirulan from *Spirulina platensis* *Journal of natural products* vol. 61, no9, pp. 1101-1104.
- **Lien A :** <http://www.valorimer.com/contenu-337-fr.htm>.
- **Li ZY, Guo SY, Lin L (2003)** Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation *Bioresour. technol.* vol. 89, no2, pp. 171-176
- **Loseva L.P. and I.V.Dardynskaya.(1993)** *Spirulina-* natural sorbent of radionucleides *Research Institute of Radiation Medicine, Minsk,Belarus.* 6th Int'l Congress of Applied Algology, Czech Republic.
- **LoupJ.1997.**Nouveau dictionnaire de bactériologie chimique , nouvelle édition, pp54,209.
- **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. *Appl.Environ.Microbiol.*, 69, (11) 6816-6824.

M

- **Magdeaine P and Chesnel C, 2002.** Evaluation des surcoûts générés par les contraintes réglementaires en volailles de chair : conséquence sur la compétitivité de la filière. *Sciences et techniques avicoles*, 49, 17-25.
- **Manger BR, 1991.** In *Veterinary applied, Pharmacology and Therapeutics, Part III Control of infectious diseases: chemotherapy*, Chapitre 33: Anticoccidials, 5 th Ed, Ed Bailliere Tindall, London, UK.
- **Mazo VK, (2004)** Microalgae spirulina in human nutrition. *Vopr Pitan* 73:45-53.
- **Mekalti M, 2003.** Incidence pathologique de la coccidiose en Aviculture. Magister en médecine vétérinaire, Université de Batna, Faculté des sciences, Département vétérinaire, Option pathologie des animaux domestiques.
- **Mendes RL, Alberto DR, Antonio FP (2006)** Supercritical CO2 extraction of g-linolenic acid and other lipids from *Arthrospira (Spirulina)maxima*: Comparison with organic solvent extraction *Food Chemistry*, Volume 99, Issue 1, Pages 57-63
- **Ming-Hsein L and Hong-Kein OOI, 2008.** Effect of chromium compounds on sporulation of *Eimeria piriformis* oocysts. *Exp. Anim*, 57, 1, 79-83.

- **Mirabito L, 2004.** Bien-être animal : contexte et travail de l'ITAVI. Sciences et Techniques Avicoles, 20, 26 – 28
- **Mitchell GV; Grundel E; Jenkins M; Blakely SR (1990)** Effects of graded dietary levels of *Spirulina maxima* on vitamins A and E in male rats J.Nutr. 1990 Oct; 120(10): 1235-40
- **Mollo. P, 2013.** le manuel du plancton.
- **Moreda. R, (2007).** édition janvier du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie.
- **Morgan JAT, Morris GM, Wlodek BM, Byrnes R, Jenner M, Constantinoiu CC, Anderson GR, Lew-TaborAE, Molloy JB, Gasser RB, and Jorgensen WK, 2009.** Real-time polymerase chain reaction (PCR) assays for the specific detection and quantification of seven *Eimeria* species that cause coccidiosis in chickens. Mol. Cell. Probes, 23, 83–89
- **Morris GM and Gasser RB, 2006.** Biotechnological advances in the diagnosis of avian coccidiosis and the analysis of genetic variation in *Eimeria*. Biotechnol. Adv, 24, 590–603.
- **Mouafo AN, Richard F, and Entzeroth R, 2000.** Observation of sutures in the oocyst wall of *Eimeria tenella* (Apicomplexa). Parasitol. Res, 86, 12, 1015-1017.
- **Mühling M., Belay A., Whitton B. (2005)** Variation in fatty acid composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains Journal of Applied Phycology, Volume 17, Number 2, pp. 137-146(10)
- **Mundt S, Kreitlow S, Nowotny A, Effmert U (2001)** Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. International Journal of Hygiene and Environmental Health 203: 327-334.

N

- **Nauciel C, Vildé J.L. 2005.** Bactériologie médicale, 2^{ème} édition, pp, 52
- **Neff C., Danuser J. & Hoop R. 2006.** Etude de référence sur la prévalence des salmonelles dans les cheptels de poules pondeuses de l'espèce *Gallus gallus*. Rapport Final de l'Office vétérinaire Fédéral
- **Nippon Ink & Chemicals (1977).** "Spirulina". Bull Tech Dye Nippon.
- **Noguchi Y, Ishii A, Matsushima A, Haishi D, Yasumuro K, Moriguchi T, Wada T, Kodera Y, Hiroto M, Nishimura H, Sekine M, Inada Y. (1999)** Isolation of

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Biopterin-alpha-glucoside from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* and Its Physiologic Function. *Mar Biotechnol* (NY).1(2) :207-210.

O

- **Olin tudge 2000.**The variety of life, oxford university press.
- **Organisation mondiale de la santé animale (2008).** *Listeria monocytogenes* In Manuel terrestre, Chapitre 2.9.7.

P

- **Palla-JC & Busson-F (1969).** Etude des caroténoïdes de *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler (Cyanophycées) C.R. Acad. Sc. Paris, t.269 p.1704-1707.
- **Pang QS; Guo BJ; Ruan JH (1988)** Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis* I Chuan Hsueh Pao. 1988; 15(5): 374-81
- **Parikh P, Mani U, Iyer U (2001)** Role of *Spirulina* in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food* 4: 193-199.
- **Pascaud M, Doumenge F, Durand-Chastel H, Toulemont A (1993)** The essential polyunsaturated fatty acids of *Spirulina* and our immune response. *Bull. Inst. océanogr.* NS12: 49-57.
- **Pascaud M., (1993)** The essential polyunsaturated fatty acids of spirulina and our immune response *Bull. Inst. Océano, Monaco, n°spécial 12, 49-57*
- **Pierlovisi C (2007)** L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris (162).
- **Pillet C.H, Bourdon B, Toma N, Marghal c, Balbaste N.1986.**Bactériologie médicale et vétérinaire, systématique bactérienne, 2 eme édition, Masson.
- **Pillet. CH, J , L.Bourdon.B, Toma.Nmrghal, C.Ball, 1986.**Bactériologie médicale et vétérinaire. edition Paris
- **Planes P.; Rouanet J.-M.1; Laurent C.; Baccou J.-C.; Besancon P.; Caporiccio B. (2002)** Magnesium bioavailability from magnesium-fortified spirulina in cultured human intestinal Caco-2 cells *Food Chemistry, Volume 77, Number 2, pp. 213-218(6)*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Proietti P.C., Castellini C., Dal Bosco A., Franciosini P.M. & Asdrubali G. 2007.** Investigation on intestinal bacterial flora and Salmonella spp. presence in organic and conventional chickens. I. J. Anim. Sci. 6: 305-308
- **Puyfoulhoux G, Rouanet JM, Besancon P, Baroux B, Baccou JC, Caporiccio B (2001)** Iron availability from iron-fortified spirulina by an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 1625-1629

Q

- **Qishen P., Kolman et al. (1989)** Radioprotective effect of extract from spirulina in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test Toxicology Letters 48: 165-169.
- **Quillet M. (1975).** Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines Ann. Nutr. Aliment. 29, 553-561.
- **Quoc KP., Dubacq J.-P., Demandre C. et Mazliak P. (1994)** Comparative effects of exogenous fatty acid supplementations on the lipids from the cyanobacterium Spirulina platensis Plant physiology and biochemistry, vol. 32, n°4, pp. 501-509
- **Qureshi MA, Garlich JD, Kidd MT (1996)** Dietary Spirulina platensis enhances humoral and cell-mediated immune functions in chickens. Immunopharmacology and Immunotoxicology 18: 465-476.

R

- **Ramamoorthy A, Premakumari S (1996)** Effect of supplementation of Spirulina on hypercholesterolemic patients. Journal of Food Science and Technology 33: 124-128
- **Rand MS, 1986.** Summary of avian disease: Fungal, Nutritional, Tumors, parasites et miscellaneous.
- **Rechter S, Konig T, Auerochs S, Thulke S, Walter H, Dornenburg H, Walter C, Marschall M. (2006)** Antiviral activity of Arthrospira-derived spirulan-like substances Antiviral Res. vol. 72, n°3 (2006) p. 197-206

Références bibliographiques

- **Regnault J.P.2000.**Microbiologie générale, microorganismes commensaux, 2eme édition, Paris, pp,56.
- **Regunathan C, Wesley SG (2006)** Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using Spirulina as a carotenoid source. Aquaculture Nutrition 12: 425-432.

- **Remirez D, Gonzalez R, Merino N, Rodriguez S, Ancheta O (2002)** Inhibitory effects of Spirulina in zymosan-induced arthritis in mice. *Mediators of Inflammation* 11: 75-79.
- **Reperant JM, 2001.** Présent et avenir du contrôle des coccidioses aviaires. Proceeding 4ème Journées de la Recherche avicole, Nantes.
- **Reperant JM, Ribot J, Thomas-Hénaff M, Morel H, Morel J, and Jestin V, 2003.** Marqueurs immunologiques d'espèces de coccidies parasites du poulet. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours.
- **Ross E; Dominy W (1990)** The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry *Poult.Sci.* 1990 May; 69(5): 794-800.
- **Ruff M.D., Reid W.M.** chapitre2 : Avian coccidia in ^{^^}Parasitic Protozoa^{^^}, vol III ^{^^}Gregarine, Haemogregarines, coccidian Plasmodia and Haemoproteids^{^^}1977, edited by Kreier JP, Academic Press, INC New York, San Francisco, London
- **Ryan KJ, Ray CG (éditeur).** Sherris microbiologie médicale.
- **Ryser E.T., Marth E.H., (eds). (1999).** *Listeria*, listeriosis and food safety.2nd edition, New-York NY: Marcel Dekker.

S

- **SA : Salsbury laboratories, 1976.** Maladies des volailles (manuel Salsbury). Charles city, Iowa. SA : Salsbury laboratories, 1976. Maladies des volailles (manuel Salsbury). Charles city, Iowa.
- **Saker ML, Welker M., Vasconcelos VM (2007)** Multiplex PCR for the detection of toxigenic cyanobacteria in dietary supplements produced for human consumption *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73 :1136-1142
- **Santillan C. (1974)** Cultivation of the Spirulina for Human Consumption and for Animal Feed International Congress of Food Science and Technology, Madrid (Spain) September 1974.
- **Sautier C et Trémollières J. (1975)** Valeur alimentaire des algues spirulines chez l'homme *Ann. Nutr. Aliment.* 29, 517-533
- **Schrezenmeir, J. & DeVrese, M. 2001.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition. *Am.J.Clin.Nutr.*, 73, (2) 361-364
- **Seshadri C.V. (1993)** Largescale nutritional supplementation with spirulina alga. All India Coordinated Project on Spirulina. Shri Amm Murugappa Chettiar Research Center (MCRC) Madras, India.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Shingleton P., et Sainsbury D.,** Abrégés de bactériologie. Masson, Paris.
- **Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A (2006)** Commercial Applications of Microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101: 87-96.
- **Stotish RL, Wang CC, and Meyenhofer M, 1978.** Structure and composition of the oocyst wall of *Eimeria tenella*. J. Parasitol, 64, 6, 1074-1081.
- **Suls L, 1999.** The continuous battle against coccidiosis. World poultry, Elsevier special.
symposium sur la spiruline *Spirulina Platensis* (Gom.) Geitler de l'AFAA.
- **Systema KJ, et J.C, 2001** pires, taxon 50, p.726.

T

- **Tang G., Qin J., Dolnikowski GG., Russell RM. (2000)** Vitamin A equivalence of beta-carotene in a woman as determined by a stable isotope reference method. Eur J Nutr. 39(1):7-11.
- **Theiry éberlin.** Les infections microbiennes, tome 1, agents infectieux, Paris, 1997, p43.
- **Toyomizu M, Sato K, Taroda H, Kato T, Akiba Y (2001)** Effects of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. British Poultry Science 42: 197-202
- **Tsarahevitra J (2005)** Adaptation de la Spiruline du Sud de Madagascar à la culture en eau de mer. Mise au point de structures de production à l'échelle villageoise. IHSM, Université de Toliara, Marseille (186).

V

- **Van Eekeren N, Maas A, Saatkamp HW, and Verschuur M, 2006.** L'élevage des poules à petite échelle. Série Agrodok, 4, 6-19.
- **Vannela R., Verma SK (2006)** Co^{2+} , Cu^{2+} , and Zn^{2+} Accumulation by cyanobacterium *Spirulina platensis* Biotechnol Prog 22(5):1282-93
- **Vercruyse J, 1995.** Les protozooses des animaux domestiques Paris : Fondation Mérieux, 194.
- **Villate D, 1997.** Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France agricole.
- **Villate D, 2001.** Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France agricole.
- **VLI : Vetech laboratories Inc, 2001.** Coccidiosis. Guelph, Ontario, Canada.

W

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Watanabe F, Katsura H, Takenaka S, Fujita T, Abe K, Tamura Y, Nakatsuka T, Nakano Y. (1999)** Pseudovitamin B(12) is the predominant cobamide of an algal health food, spirulina tablets. *J Agric Food Chem.* 47(11):4736-41.
- **Watanabe F, Takenaka S, Kittaka-Katsura H, Ebara S, Miyamoto E. (2002)** Characterization and bioavailability of vitamin B12-compounds from edible algae. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 48(5):325-31.
- **Watanuki H, Ota K, Tassakka ACMAR, Kato T, Sakai M (2006)** Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 258: 157-163.
- **WHO (1973)** Energy et Protein Requirement World Health Organization, Techn. Rep. Ser., N°522, Geneva
- **Williams RB, Busttel AC, Reperant JM, Doy TG, Morgan JH, Shirley MW.**

X

- **Xue CH, Hu YQ, Saito H, Zhang ZH, Li ZJ, Cai YP, Ou CR, Lin H, Imbs AB (2002)** Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry* 77: 9-13.

Y

- **Yamamoto C, Fujiwara Y, Kajia T (2006)** The biological effects of depolymerized sodium spirulan and sulfated colominic acid on vascular cells are beneficial in preventing atherosclerosis. *Journal of Health Science* 52: 205-210.
- **Yonghuan, W. (1994)** The study on curative effect of zinc containing spirulina for zinc deficient children Capital Medical College, Beijing, China
- **Yvoré P, 1992.** Les coccidioses en aviculture. Manuel de parasitologie aviaire, Ed chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour.
- **Yvoré P, Carr MM, and Fermont YA, 1996.** Servey of *Eimeria* species in commercially reared chickens in France during 1994, *Avian path*, 25.

Z

- **Zarrouk C (1966)** Contribution à l'étude d'une cyanophycée : influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler Thèse Doctorat Faculté des Sciences. Université de Paris.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Zhang Cheng-Wu, et al. (1994)** Effects of polysaccharide and phycocyanin from spirulina on peripheral blood and hematopoietic system of bone marrow in mice Proc. of Second Asia Pacific Conf. on Algal Biotech. Univ. of Malaysia.

Résumé

L'utilisation de nombreuses plantes médicinales et d'algues d'eaux douces par l'homme est une pratique antique, et aussi à nos jours, compte tenu de leurs propriétés convenant à leurs compositions.

La spiruline est une micro algue à un grand intérêt thérapeutique et alimentaire grâce à ces composantes qui possèdent des propriétés antioxydant, anti-inflammatoires et laxatives telles que les omégas3, Vitamine E, la Phycocyanine et B-carotène.

L'objectif de ce travail est d'étudier in vitro l'effet antibactérien de plusieurs souches bactériennes commensales et pathogène strains chez le poulet de chair (*E. coli*, *Enterobacter sp*, *Proteus mirabilis*, *S.typhi*, *S.typhimirium*, *S.enteritidis*, *S.gallinarum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *S.aureus*) et anticoccidien (*Eimeria sp*) des différents extraits de la spiruline : l'extrait brut éthanolique, l'extrait brut méthanolique, l'extrait brut acétonique et l'huile comparés à une multitude d'antibiotiques.

Les résultats obtenus montrent une meilleure sensibilité des bactéries à l'extrait brut éthanolique et méthanolique par rapport aux autres extraits.

L'effet antiparasitaire révélé par l'action lytique des différents extraits de la spiruline surtout l'extrait éthanolique et l'huile sur les espèces de coccidies aviaires.

Il a été noté que l'extrait éthanolique et méthanolique ont une action inhibitrice sur toutes les espèces bactériennes étudiées parfois supérieur à celle des antibiotiques. L'extrait éthanolique et l'huile ont un effet léthal remarquable sur le genre d'*Eimeria sp* semblable à celle de l'effet des anticoccidien à concentration de 0.2g/ml qui fait réduire le plus grand nombre des oocystes.

En conclusion, en plus de son effet nutritionnel pour les animaux et les humains, la supplémentation alimentaire en spiruline peut-être recommandée comme traitement anti parasitaire et anti microbien

Mots clés : extrait de la spiruline - in vitro - antibactérien – anticoccidien- poulet de chair

Summary

The use of many medicinal plants and fresh water alga by humans is an ancient practice, and still nowadays, regarding their valuable properties and compositions.

The Spisulina is a micro alga with interesting therapeutic actions. Its seeds have antioxidant, anti-inflammatory and laxative effects due to their compositions such as omégas3, Vitamin E, Phycocyanine and B-carotene.

The objective of this study is to evaluate the in vitro antibacterial effect of several commensals and pathogenic bacterial strains in poultry (*E.coli*, *Enterobacter sp*, *Proteus mirabilis*, *S.typhi*, *S.typhimirium*, *S.enteritidis*, *S.gallinarum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *S.aureus*), and anticoccidial (*Eimeria sp*) of deferent spirulina extracts: ethanolic crude extract, methanolic crude extract, acetonic crude extract, and oil compared to many antibiotics.

The obtained results showed better sensibility of the studied strains to ethanol end methanolic crude extract than to the other crude extracts.

Ethanolic and methanolic crude extracts have high inhibitory zones on all bacteria strains and wer better than many antibiotics. Ethanolic crude extract and oil have a remarkable lethal effect on the *Eimeria sp* similar to the anticoccidial effect at 0.2g/ml concentration, which had reduced the highest number of oocysts.

In conclusion, in addition to its nutritional value for both animals and humans, dietary supplementation with spirulina can be recommended as an anti-parasitic and antimicrobial treatment.

Key words: spirulina extracts – in vitro – antibacterial- anticoccidial -poultry

Système d'identification des staphylocoques, microcoques et apparentés

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. 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 et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (coffret de 25 tests)

- 25 galeries API Staph
- 25 boîtes d'incubation
- 25 ampoules d'API Staph Medium
- 25 fiches de résultats
- 1 notice

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API Staph est reportée dans le tableau de lecture de cette notice.

Milieu

API Staph Medium 6 ml	Extrait de levure Bactopeptone (origine bovine/porcine) NaCl Oligoéléments Eau déminéralisée pH : 7,0 - 7,4	0,5 g 10 g 5 g 10 ml qsp 1000 ml
-----------------------------	---	--

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs

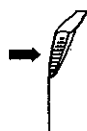
- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- Réactifs : VP 1 + VP 2 (Réf. 70 422)
NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442)
ZYM A (Réf. 70 494)
ZYM B (Réf. 70 493)
- McFarland Standard (Réf. 70 900)
- Catalogue Analytique API Staph (Réf. 20 590) ou logiciel d'identification **apiweb**™ (Réf. 40 011) (consulter bioMérieux)

Matériel

- Pipettes ou PSipettes
- Portoir pour ampoules
- Protège-ampoule
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle microbiologique.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures bactériennes et produitsensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "CLSI M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage et des composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert, ...
- Ouvrir les ampoules délicatement comme suit :
 - Placer l'ampoule dans le protège-ampoule.
 - Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut).
 - Bien enfoncer le bouchon.
 - Exercer une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule.
 - Retirer l'ampoule du protège-ampoule et conserver le protège-ampoule pour une utilisation ultérieure.
 - Enlever délicatement le bouchon.
- Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.
- Il est recommandé de réaliser un contrôle qualité avant d'utiliser chaque nouvelle ampoule de réactif ZYM B.



CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API Staph ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation.)
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Réaliser une préculture sur gélose Columbia au sang (ou Agar P) 18-24 H à 36°C ± 2°C.
- Vérifier l'appartenance de la souche à la famille des *Micrococcaceae* (morphologie, Gram, catalase...), ainsi que sa pureté.
- Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation".
- Préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette ou d'une PSIPette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSIPette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une anaérobiose dans les tests **ADH** et **URE** en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

- Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de Lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :

- Test VP : VP 1 et VP 2.

Attendre 10 minutes. Une couleur **rose franche** ou **violette** indique une réaction **positive**. Une couleur **rose pâle** ou **rose claire** obtenue après 10 minutes doit être considérée **négative**.

- Test NIT : NIT 1 et NIT 2.

Attendre 10 minutes. Une coloration **rouge** indique une réaction **positive**.

- Test PAL : ZYM A et ZYM B (*).

Attendre 10 minutes. Une coloration **violette** indique une réaction **positive**.

(* **Il est recommandé de contrôler** chaque ampoule de réactif ZYM B avant la 1^{ère} utilisation.

Pour cela, il est recommandé d'utiliser la souche **ATCC 700404** mentionnée au paragraphe Contrôle Qualité afin d'exclure tout réactif défectueux.

- Noter les résultats sur la fiche de résultats.

Test de résistance à la lysostaphine

Déterminer la résistance à la lysostaphine sur milieu Agar P selon la procédure suivante ou selon les recommandations du fabricant.

Pour cela, ensemercer par inondation la surface d'une gélose Agar P avec une suspension bactérienne d'environ 10⁷ germes/ml.

Laisser sécher 10-20 min à 36°C ± 2°C.

Déposer à la surface de la gélose, une goutte d'une solution de lysostaphine à 200 µg/ml.

Incuber 18-24 H à 35-37°C.

Une lyse totale ou subtotale de la culture bactérienne indique une sensibilité à l'enzyme.

Ce test constitue le 21^{ème} test de la galerie. Il est considéré positif en cas de résistance à la lysostaphine.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

- Détermination du profil numérique :
Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.
- Identification :
Elle est réalisée à partir de la base de données (V 4.1) :
* à l'aide du Catalogue Analytique :
- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
* à l'aide du logiciel d'identification **apiweb**™ :
- Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1
GLU	TRU	HNE	NAL	LAC	IRE	WAN	XIT	MEL	HIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	HDO	HAG	ADH	URE
6	7	0	6	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1

6 706 113 *Staphylococcus epidermidis*

CONTROLE DE QUALITE

Les milieux, galeries et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche 1. *Staphylococcus xylosus* ATCC® 700404 de préférence ou l'une des souches suivantes :

2. *Staphylococcus lentus* ATCC 700403 3. *Staphylococcus capitis* ATCC 35661

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
1.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	V	-	+	+	-	+	-	+
2.	-	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	V	V	+	+	+	+	+	-	-
3.	-	+	+	+	-	-	-	V	-	-	+	-	+	-	-	-*	-	-	+	-

* Ce résultat peut varier en fonction du milieu de culture utilisé.

Profils obtenus après culture des souches sur gélose au sang de mouton.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

- Le système API Staph est destiné à l'identification des espèces mentionnées dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice), et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

• Microcoques/*Kocuria*

171 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 87,72 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 7,60 % des souches n'ont pas été identifiées.
- 4,68 % des souches ont été mal identifiées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'Identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

- Staphylocoques**
2104 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :
 - 92,49 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
 - 4,42 % des souches n'ont pas été identifiées.
 - 3,09 % des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

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)		
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)	rouge *	jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLiToI)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NiTrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2 / 10 min</u>	
				incolore-rose pâle	rouge
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYMA + 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)		
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)	rouge	jaune
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

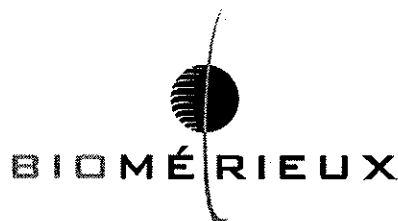
- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE	p. I
TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. II
BIBLIOGRAPHIE	p. III
TABLES DES SYMBOLES	p. IV

bioMérieux, le logo bleu, API et *apiweb* sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

ATCC est une marque appartenant à American Type Culture Collection.

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



 **bioMérieux SA**
 au capital de 12 029 370 €
 RCS LYON 673 620 399
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tél. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11



Imprimé en France