

EFFET DE L'INCORPORATION DES EXTRAITS ETHANOLIQUES DE FEUILLES D'OLIVIER DANS L'EAU DE BOISSON DU POULET DE CHAIR SUR LE MICROBIOTE CÆCAL

Ben Brahim A., Yaïch H., Abid Kh., Jabri J., Kamoun M., Rekhis J. et Malek A.

Ecole nationale de médecine vétérinaire de Sidi Thabet
Laboratoire de recherche « Gestion de la santé et de la qualité des productions animales »
hela.yaich@gmail.com

INTRODUCTION

On attribue aux extraits de feuilles d'olivier (EFO) plusieurs propriétés « thérapeutiques » :

- Une action antioxydante
- Une action hypoglycémiante
- Une action hypotensive
- Une action antimicrobienne...

→ ***Richesse en composés phénoliques***

INTRODUCTION

Recherche de solutions alternatives aux antibiotiques
facteurs de croissance dont l'utilisation est

interdite



Tester l'efficacité de ces «extraits» comme additifs chez le poulet
de chair



Effet sur le microbiote cœcal

Matériel et méthodes

1. Matériel animal

- Mille (1000) poussins d'un jour
- Souche Arbor
- Répartis en 4 lots (8 répétitions pour chaque lot) :
 - Lot témoin (LT)
 - Trois lots expérimentaux:
 - LC (5ml d'EFO/l d'eau)
 - LD (10ml d'EFO/l d'eau)
 - LV (20ml d'EFO/l d'eau)
- A J35, abattage de 10 sujets pris au hasard, récupération du tube digestif pour analyses ultérieures.

Matériel et méthodes

2. Matériel végétal

Feuilles d'olivier (*Olea europaea*)

- Séchage (à T° ambiante, à 40°)
- Broyage et conservation



Matériel et méthodes

3. Préparation des extraits (EFO)

- Extraction par macération du broyat de feuilles
 - Dans l'éthanol à 30p.100 (v/v), 24 heures
 - Dans l'eau
- A température ambiante et à T° = 40°C
- Sous agitation continue par un agitateur magnétique
- Centrifugation à 5000tr/min 20 minutes (→ récupérer surnageant)
- Quantification des polyphénols totaux

Matériel et méthodes

4. Dosage des polyphénols

- Méthode colorimétrique de « *Folin-Ciocalteu* »
- A partir d'une solution mère préparée avec de l'acide gallique (0,1 mg/ml), on prépare des solutions aux concentrations suivantes :
 - 10 µg/l
 - 20 µg/l
 - 40 µg/l
 - 80 µg/l
- Lecture de l'absorbance Spectrophotomètre UV-visible (760 nm)
- La teneur en phénols est exprimée en mg d'équivalent acide gallique par gramme (mg EAG/ g).

Matériel et méthodes

5. Poids du TD et longueur moyenne de l'intestin

Après abattage et éviscération



Poids du TD (g)

Longueur moyenne de l'intestin (m)

6. Taux de mortalité

7. Taux des triglycérides

8. Taux du cholestérol total

Matériel et méthodes

EFO utilisé : Extrait à l'éthanol (30/70) - 40g MS feuilles/100ml

Trois types d'aliments composés ont été utilisés :

- Aliment démarrage : J1 à J14.
- Aliment croissance : J15 à J28.
- Aliment finition J29 à J35.

* Répartition des animaux

- Lot T témoin (eau sans extrait)
- Lot C (5 ml EFO/l d'eau)
- Lot D (10 ml d' EFO/l d'eau)
- Lot V (20 ml d' EFO/l d'eau)

Répétition	T*	C*	D*	V*
1	31	31	30	30
2	31	30	31	32
3	32	31	32	32
4	31	32	32	30
5	32	32	31	32
6	31	32	32	32
7	31	31	31	31
8	31	31	31	31
Total	250	250	250	250

Matériel et méthodes

Les cæca sont explorés pour trois groupes de germes :

- La flore totale
- Les entérobactéries
- Les lactobacilles

Matériel et méthodes

▪ Dénombrement de la flore totale

- Ensemencement en profondeur, de 1 ml de la solution dans des boîtes de pétri sur gélose Plate Count Agar (PCA).

→ Incubation à 30°C / 30 à 48 heures

▪ Dénombrement des entérobactéries

- Ensemencement en profondeur, de 1 ml de la solution dans des boîtes de pétri sur gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBG).

→ Incubation 24 heures à 44°C.

Matériel et méthodes

▪ Dénombrement des lactobacilles

- Ensemencement en profondeur, de 1 ml de la solution dans des boîtes de pétri sur gélose de Man, Rogosa, Sharpe (MRS).

→ Incubation 48 à 72 h à 37°C

⇒ L'expression des résultats se fait par comptage des colonies à la surface du milieu multiplié par l'inverse de la dilution.

Résultats

1. Teneur en polyphénols

	10g/100 ml (T°amb)	10g/100ml (T°40°C)	20g/100ml (T°amb)	20g/100ml (T°40°C)	40g/100ml (T°40°C)
Macération dans l'eau	65,38 ^a	98,9 ^a	57,77 ^a	98 ^a	-
Macération dans l'éthanol	2 53,4 ^b	3 52,2 ^b	2 79,1 ^b	3 72,6 ^b	1189

- Pas d'effet de la température de séchage sur la teneur en polyphénols
- Teneur augmente avec l'augmentation de la quantité de la matière végétale utilisée
- Macération dans l'éthanol donne un rendement en polyphénols nettement plus élevé

Résultats

2. Poids du TD et longueur de l'intestin

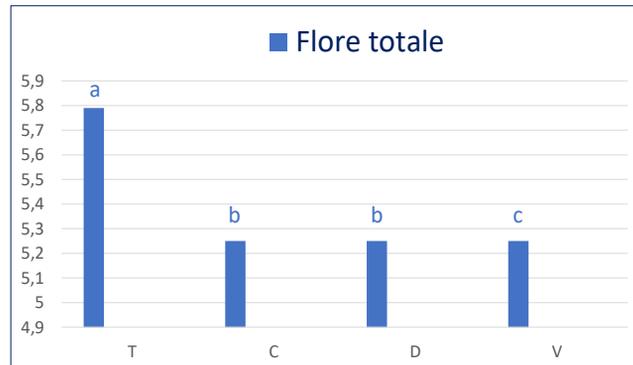
	Poids moyen du TD (g)	Longueur moyenne de l'intestin (m)
Lot T	185 ^a	2,21 ^a
Lot C	185,5 ^a	2,21 ^a
Lot D	164 ^a	1,89 ^b
Lot V	153,5 ^a	2,16 ^b

- Pas d'effet significatif de l'extrait sur le poids du TD
- À doses élevées, l'extrait entraîne une réduction de la longueur de l'intestin

Résultats

3. Effet antimicrobien de « l'extrait » sur la flore cœcale *in vivo*

3.1. Dénombrement de la flore totale (\log_{10} CFU/g).



Résultats

3. Effet antimicrobien de « l'extrait » sur la flore cœcale *in vivo*

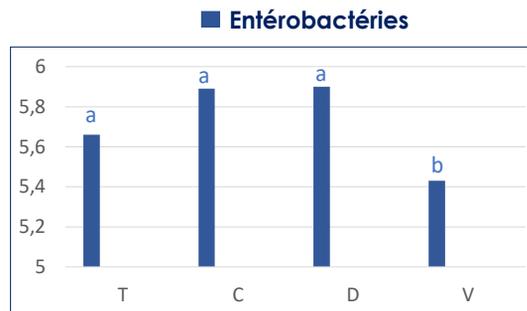
3.1. Dénombrement de la flore totale

- Le taux de la flore totale chez les sujets des lots expérimentaux est nettement inférieur à celui du lot témoin
→ **différence très hautement significative.**
- Le lot V (recevant la dose la plus élevée) présente un taux inférieur à celui des lots C et D
→ **différence statistiquement significative.**

Résultats

3. Effet antimicrobien de « l'extrait » sur la flore cœcale *in vivo*

3.1. Dénombrement des entérobactéries ($\log_{10} \text{CFU/g}$).



Résultats

3. Effet antimicrobien de « l'extrait » sur la flore cœcale *in vivo*

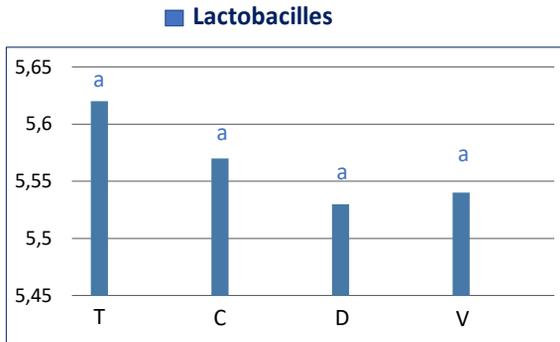
3.1. Dénombrement des entérobactéries

- Le nombre des entérobactéries chez les sujets du lot V (20 ml d'EFO/litre d'eau) est inférieur à celui du lot témoin
 → **La différence est significative.**
- L'effet de l'EFO sur la réduction du nombre des entérobactéries n'est observé qu'à la dose de 20 ml EFO/l d'eau

Résultats

3. Effet antimicrobien de « l'extrait » sur la flore cœcale *in vivo*

3.1. Dénombrement des lactobacilles (\log_{10} CFU/g).



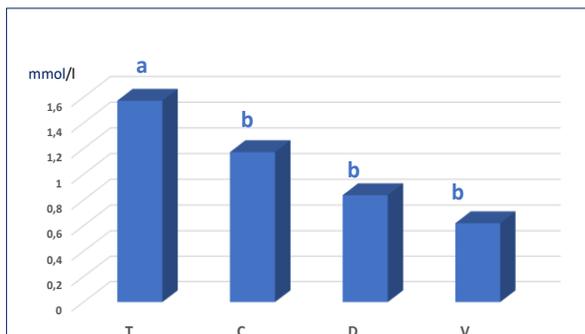
- Le taux des lactobacilles chez les sujets des lots expérimentaux (C, D et V) est inférieur à celui du lot témoin (T)

→ **La différence est non significative.**

Résultats

4. Résultats des analyses biochimiques

4.1. Taux des triglycérides



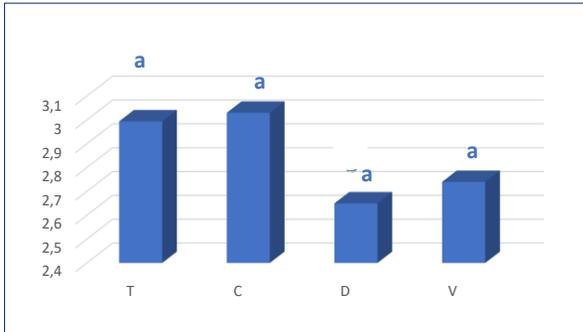
Le taux de triglycérides chez les sujets des lots expérimentaux est inférieur à celui du lot témoin

→ **La différence est statistiquement significative.**

Résultats

4. Résultats des analyses biochimiques

4.2. Taux du cholestérol total

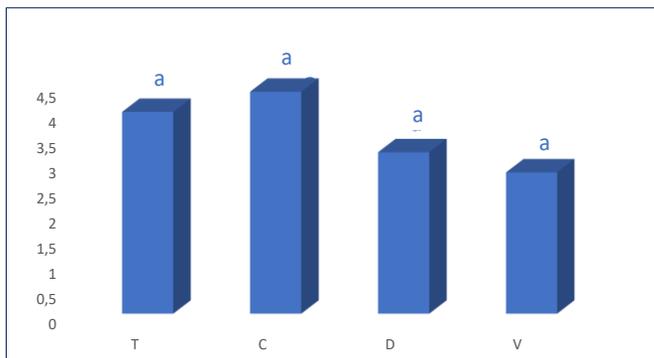


Le taux du cholestérol total chez les sujets des lots D et V est inférieur à celui du lot témoin

→ **La différence est non significative.**

Résultats

5. Taux de mortalité



Le taux de mortalité des lots « D et V » a été inférieur aux taux des lots « T et C ».

→ **Les différences sont non significatives**

Discussion

1. Extraction des polyphénols totaux à partir des feuilles d'olivier sèches

- **Effet de variation du solvant**

L'utilisation de l'éthanol comme solvant organique s'avère plus efficace pour l'extraction des polyphénols que l'utilisation de l'eau.

→ **Al-Rimawi et al, (2014)**: l'utilisation de l'eau comme co-solvant avec des solvants organiques augmente la quantité de polyphénols dans l'EFO.

- **Effet de la température de séchage**

Le séchage des FO à température ambiante ou à 40°C, n'a aucun effet sur la teneur en polyphénols totaux.

→ **Afaneh et al, (2015) et Nasir et al., (2008)**: séchage des feuilles à température ambiante est la meilleure méthode pour obtenir des extraits riches en polyphénols.

Discussion

2. Effet sur la microflore caecale

- **Flore totale (FT):**

Suite à l'incorporation de l'EFO, le nombre de la FT a diminué chez les sujets des lots expérimentaux:

→ Hamdi K., (2011) et Heni N., (2013): ont rapporté une réduction importante de la FT.

- **Les entérobactéries:**

Le nombre des entérobactéries du lot « V » est inférieur à celui du LT, la différence est significative.

→ Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Hamdi.K(2011) et Heni. N(2013).

- **Les lactobacilles:**

Aucune différence n'a été notée entre les lots expérimentaux et le lot témoin.

→ Hamdi K. (2011) et Heni N.(2013) ont rapporté une augmentation des lactobacilles dans les lots expérimentaux par rapport au lot témoin.

Discussion

3. Poids du TD et longueur de l'IG

À doses élevées, l'extrait entraîne une réduction de la longueur de l'intestin et la différence est statistiquement significative

→ **GABRIEL et al, (2005):**

Plus la charge microbienne de l'intestin est importante, plus le poids, l'épaisseur et la longueur de ce dernier augmentent

Discussion

4. Analyses biochimiques

▪ Triglycérides

Comparé au lot témoin, le taux de triglycérides des lots D et V a diminué d'une façon significative

→ **Khalifah et al. (2013):**

Le taux triglycérides des lots ayant pris l'extrait de feuilles d'olivier a diminué significativement.

▪ Cholestérol total

Pas de différence significative entre les lots expérimentaux et le LT.

→ **Khalifah al., (2013):**

Ont montré que le taux du cholestérol des lots recevant l'extrait de feuilles d'olivier a diminué d'une façon significative.

Conclusion

- L'utilisation de l'éthanol comme solvant organique pour l'extraction des composés phénoliques améliore nettement la teneur en polyphénols dans l'extrait obtenu.
- Le séchage de feuilles d'olivier à $T = 40\text{ °C}$ / 24 h constitue une bonne alternative par rapport au séchage à température ambiante qui prend en moyenne 12 jours.
- L'incorporation de l'EFO réduit la charge microbienne et diminue la longueur de l'intestin grêle
- Réduction du taux de mortalité et du taux des triglycérides



JNA, Novembre 2018