

**Rennes, le 10 Juin 2010**

**“ Les organisateurs tiennent à remercier les firmes et organismes dont l'aide a été précieuse pour la réalisation des RIPPA ”**

**ALPHARMA BVBA**

Garden Square | Laorstraat 16 | 26 Antwerp | Belgique

**BIOVAC**

Angers Technopôle | 49071 Beaucouzé Cedex

**CEVA**

ZI de la Ballastière | BP 126 | 35501 Libourne Cedex

**DSM**

Kirkebjerg | Allée 88, 1 | DK 2605 Brøndby

**FILAVIE**

Rue du Moulin de la Rousselière | 44821 Saint-Herblain Cedex

**FILIÈRES AVICOLES**

13, square du chêne | Germain | 35510 Cesson-Sévigné Cedex

**HIPRA**

1103, avenue Jacques Cartier | 44800 Saint-Herblain

**INTERVET SA**

Rue Olivier de Serres | Angers Technopôle | 49071 Beaucouzé Cedex

**JANSSEN**

Division Janssen Cilag | 1, rue Camille Desmoulins | 92787 Issy-les-Moulineaux

**LOHMANN ANIMAL HEALTH**

Heinz - Lohmam - Strabe 4 | 24472 Cuxhaven | Germany

**MERIAL**

13b, avenue Albert Einstein | 69623 Villeurbanne Cedex

**NOVARTIS SANTÉ ANIMALE**

14, boulevard Richelieu | 92845 Rueil Malmaison Cedex

**PFIZER**

23-25, avenue du D' Lannelongue | 75668 Paris Cedex 14

**VIRBAC FRANCE**

13° rue Lid | 06517 Carros Cedex

## Organisation

# des RIPPA 2010

### *Coordination*

D<sup>r</sup> Eric CHATAIGNER

### *Organisation*

D<sup>r</sup> Natacha SORIN  
D<sup>r</sup> Didier CLEVA  
D<sup>r</sup> Marc LOYAU  
D<sup>r</sup> Olivier SALANDRE

### *Communication*

Séverine CLARET - ROBIN  
Magali FER

### *Remerciements pour leur intervention*

D<sup>r</sup> Jacqueline BASTIEN  
D<sup>r</sup> Eric BOUSQUET  
D<sup>r</sup> Nadine CARIOU  
D<sup>r</sup> ès sciences Florent CHAZARENC  
D<sup>r</sup> Martina DARDI  
D<sup>r</sup> Dominique FOURNIER  
D<sup>r</sup> Yannick GARDIN  
D<sup>r</sup> Hervé JAUNET  
D<sup>r</sup> Pieter KÜHNE

Damien MARTIN  
François MERLET  
D<sup>r</sup> ès sciences Pierre-Yves MOALIC  
D<sup>r</sup> Paul MORILLON  
Jean-Louis PINSARD  
D<sup>r</sup> Alain RIGGI  
D<sup>r</sup> Pascale RIGOMIER - BARRAT  
D<sup>r</sup> Anne-Sophie RIVIERE  
Pierre Yves RUELLAND

D<sup>r</sup> Eric THIBAUT  
D<sup>r</sup> Richard TURNER  
D<sup>r</sup> ès sciences Eric VALETTE  
D<sup>r</sup> Dieter VANCRAEYNEST  
D<sup>r</sup> Jean-Marie WATIER  
D<sup>r</sup> ès sciences Gilbert WEBER

### *Remerciements pour leur concours*

Chantal BLANCHARD  
Chantal BOUCARD  
Jean-Luc CADINOT  
Emmanuelle CHEVANCE  
Laurence CLERMONT

Valérie CONNAN  
D<sup>r</sup> Jean DUDOUYT  
Catherine GARÇON  
Chrystèle GENDROT  
Olivier LEBARS

Edwige MOUSSU  
D<sup>r</sup> Patrick PUPIN  
Valérie PUPIN

# Sommaire

- 7** **Intérêt de la tiamuline dans la gestion thérapeutique des pathologies associées à *Ornithobacterium rhinotracheale* chez la dinde**  
*Pierre-Yves RUELLAND, NOVARTIS, Rueil Malmaison, France*
- 13** **Usage de la doxycycline en aviculture : évolution réglementaire et données récentes**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Eric BOUSQUET, LABORATOIRE VIRBAC, Carros, France*
- 17** **La tylvalosine en production avicole**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Dieter VANCRAEYNEST, ALPHARMA, Anvers, Belgique*
- 23** **Démarche Guide de Bonnes Pratiques du Médicament Vétérinaire : « Une réponse aux préoccupations des consommateurs, des filières et des vétérinaires »**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Jacqueline BASTIEN, SNGTV, Brassac-les-Mines, France*
- 27** **Effets de la Colistine sur la flore digestive au démarrage**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Nadine CARIOU, SELVET CONSEIL, Loudéac, France*
- 31** **Les coûts de supplémentation en Coccidiostatiques des aliments volaille : Mise au point d'une méthode d'évaluation**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Alain RIGGI, D<sup>r</sup> Vétérinaire Jean-Marie WATIER, INTERVET SA, Beaucozéz, France*
- 37** **Intérêt de l'utilisation d'eubiotiques dans l'aliment pour optimiser la microflore digestive du poulet de chair**  
*D<sup>r</sup> ès sciences Gilbert WEBER, DSM, Bâle, Suisse*
- 45** **Etude terrain de l'activité d'une flore construite bactérienne chez le poulet de chair**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Dominique FOURNIER, FILAVIE, Saint Herblain, France*
- 49** **Pathogénicité d'*Eimeria praecox* chez le poulet de chair et virulences comparées de souches terrain d'*Eimeria praecox* et *acervulina***  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Martina DARDI, Laboratorios Hipra SA, Avda, La Selva, Espagne*
- 55** **Efficacité de l'immunité active par la vaccination contre la maladie de Gumboro vis à vis d'épreuves réalisées avec différents types de virus**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Yannick GARDIN, CEVA, Libourne, France*
- 57** **Vaccin vecteur HVT-IBD : suivi de la qualité de vaccination à l'aide des méthodes PCR et ELISA. Illustration par quelques cas cliniques**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Paul MORILLON, MERIAL, Villeurbanne, France*
- 63** **Compte-rendu des résultats de l'enquête BURSAMETER™ effectuée dans des élevages français en 2008-2009**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Anne-Sophie RIVIERE, PFIZER Santé animale, Paris, France*  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Hervé JAUNET, PFIZER Santé animale, Paris, France*

*Suite du sommaire...*



# Sommaire (la suite)

## Sommaire

- 67** **Synthèse sur l'Anémie Infectieuse et expérience en Grande-Bretagne**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Richard TURNER, LOHMANN Animal Health, Cuxhaven, Allemagne*
- 69** **L'hépatite virale à inclusion, une pathologie toujours d'actualité**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Pascale RIGOMIER-BARRAT, CELTIVET, Ploumagoar, France*
- 73** **Caractérisation de souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées à partir de la trachée chez la dinde : intérêts et limites du diagnostic bactériologique**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Eric THIBAUT, BIOVAC, Beaucouzé, France*
- 77** **Infections dues au nouveau virus REO ERS, en France et en Europe**  
*D<sup>r</sup> Vétérinaire Pieter KÜHNE, D<sup>r</sup> Vétérinaire Jean-Marie WATIER, INTERVET SA, Beaucouzé, France*
- 83** **Biofilm dans les élevages avicoles : mécanismes de développement et stratégies de contrôle**  
*D<sup>r</sup> ès sciences Florent CHAZARENC, École des Mines de Nantes, Nantes, France*
- 91** **Traitement électromagnétique de l'eau**  
*D<sup>r</sup> ès sciences Eric VALETTE, PLANET HORIZONS TECHNOLOGIES SA, Sierre, Suisse*
- 99** **Nouvelles approches pour la détermination du pouvoir pathogène des colibacilles aviaires**  
*D<sup>r</sup> ès sciences Pierre-Yves MOALIC, LABOFARM, Loudéac, France*
- 103** **Mécanismes de résistance aux antibiotiques et lecture interprétative des antibiogrammes**  
*Jean-Louis PINSARD, Damien MARTIN, FINALAB BIO CHÊNE VERT, Châteaubourg, France*
- 105** **Bien-être des poulets de chair : Application de la directive et réalité de l'élevage**  
*François MERLET, CRAPL-ITAVI, Angers, France*

## Intérêt de la tiamuline dans la gestion thérapeutique des pathologies associées à *Ornithobacterium rhinotracheale* chez la dinde

### INTERVENANT

**Pierre-Yves RUELLAND,**  
NOVARTIS, Rueil Malmaison, France

**D<sup>r</sup> Mélanie BELLIARD<sup>(1)</sup>, Pierre-Yves RUELLAND<sup>(1)</sup>,  
D<sup>r</sup> Arnaud BALLOT<sup>(2)</sup>, Michel LEFLOCH<sup>(2)</sup>,  
D<sup>r</sup> Christophe DAUBIGNARD<sup>(1)</sup>**

<sup>(1)</sup>NOVARTIS SANTE ANIMALE

<sup>(2)</sup>MCVET Conseil

*Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) est un agent responsable d'importants problèmes sanitaires chez la volaille et qui est de plus en plus répandu en France. Ce bacille Gram négatif induit des symptômes respiratoires (pneumonies) et articulaires (arthrites et ténosynovites) aux conséquences économiques importantes par mortalité ou saisie de carcasses à l'abattoir.

Ces dernières années, les traitements antibiotiques utilisés pour traiter ORT sont devenus moins efficaces. Des résistances acquises sont observables pour les molécules suivantes : les pénicillines et céphalosporines, les tétracyclines, les lincosamides, les macrolides (érythromycine, tylosine, tilmicosine) et les fluoroquinolones (fluméquine, enrofloxacin) (Chin et Droual, 1997 ; Devriese et coll., 1995 ; Empel et Hafez, 1999). A l'inverse, la tiamuline reste un antibiotique dont le potentiel thérapeutique contre ORT n'est détérioré ni par une utilisation massive, ni par le développement de résistances et ce grâce à certaines de ses caractéristiques pharmacodynamiques.

La tiamuline est un antibiotique de la famille des pleuromutilines qui n'est pas apparenté aux macrolides ni aux tétracyclines et donc qui ne présente pas de résistance croisée avec ces familles d'antibiotiques. Elle possède une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) en France pour la prévention et le traitement de la maladie respiratoire chronique des poules et dindes (dont ORT) sous sa forme DENAGARD® Solution buvable 12.5 % à la dose de 80 à 160 ml par tonne de poids vif (PV) et par jour, pendant 3 jours. Étonnamment, son utilisation en pratique est peu répandue.

L'objectif de cette étude est de rappeler l'intérêt de la tiamuline dans la gestion de ces pathologies et d'obtenir des données terrain récentes en testant son efficacité clinique à une dose hors AMM de 80 ml/tonne de PV/j pendant 5 jours.

## Introduction

*Ornithobacterium rhinotracheale (ORT)* est un agent responsable d'importants problèmes sanitaires chez la volaille et qui est de plus en plus répandu en France. Ce bacille Gram négatif induit des symptômes respiratoires (pneumonies) et articulaires (arthrites et ténosynovites) aux conséquences économiques importantes par mortalité ou saisie de carcasses à l'abattoir.

Ces dernières années, les traitements antibiotiques utilisés pour traiter ORT sont devenus moins efficaces. Des résistances acquises sont observables pour les molécules suivantes : les pénicillines et céphalosporines, les tétracyclines, les lincosamides, les macrolides (érythromycine, tylosine, tilmicosine) et les fluoroquinolones (fluméquine, enrofloxacin) (Chin et Droual, 1997 ; Devriese et coll., 1995 ; Empel et Hafez, 1999). A l'inverse, la tiamuline reste un antibiotique dont le potentiel thérapeutique contre ORT n'est détérioré ni par une utilisation massive, ni par le développement de résistances et ce grâce à certaines de ses caractéristiques pharmacodynamiques.

La tiamuline est un antibiotique de la famille des pleuromutilines qui n'est pas apparenté aux macrolides ni aux tétracyclines et donc qui ne présente pas de résistance croisée avec ces familles d'antibiotiques. Elle possède une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) en France pour la prévention et le traitement de la maladie respiratoire chronique des poules et dindes (dont ORT) sous sa forme DENAGARD® Solution buvable 12.5 % à la dose de 80 à 160 ml par tonne de poids vif (PV) et par jour, pendant 3 jours. Étonnamment, son utilisation en pratique est peu répandue.

L'objectif de cette étude est de rappeler l'intérêt de la tiamuline dans la gestion de ces pathologies et d'obtenir des données terrain récentes en testant son efficacité clinique à une dose hors AMM de 80 ml/tonne de PV/j pendant 5 jours.

## 1. Matériel et méthodes

Nous avons testé l'efficacité de la tiamuline (DENAGARD® Solution buvable 12.5 %) sur 3 lots de dindes à une posologie hors AMM de 80 ml/tonne de PV/j (soit 8,1 mg/kg de PV) pendant 5 jours, sur les infections respiratoires à *Ornithobacterium rhinotracheale* en incluant :

- deux lots avec atteinte respiratoire classique (infection précoce),
- un lot avec atteinte respiratoire et articulaire.

La dose hors AMM a été choisie selon l'hypothèse suivante : la tiamuline est un antibiotique bactériostatique et un traitement de 5 jours doit permettre de limiter le risque de rechute après arrêt du traitement.

### ■ Critères d'inclusion des lots

- présence d'ORT fortement suspectée sur lots testés (examen clinique +/- autopsie),
- recherche d'ORT par mise en culture d'organes prélevés sur les animaux + antibiogramme,
- diagnostic devant être précoce pour les lots où l'essai est réalisé sur des formes respiratoires.

### ■ Traitement et suivi

- préparation et distribution de la solution de traitement pour une consommation en 6 à 8 heures,
- validation des conditions d'administration du traitement sur site par le vétérinaire = visite 1 (VE1) + fiche de commémoratifs,
- bilan de l'état du lot et appréciation de l'efficacité du traitement en fin de période d'administration = visite 2 (VE2).

Pour chacun des 3 lots testés les éléments suivants ont été récoltés :

- copie de la fiche « bande du lot en production » recueillie chez l'éleveur,
- résultats des analyses effectuées sur les lots testés (autopsie, contrôle parasitaire, bactériologie, antibiogramme),
- compte-rendu des visites VE1 et VE2,
- résultats des examens de laboratoire complémentaires si réalisés,
- synthèse effectuée sur les résultats du lot et l'efficacité du traitement,
- synthèse sur l'ensemble de l'essai.

## 2. Résultats

### ■ Caractéristiques des lots et commémoratifs

Les lots étudiés comprenaient :

- deux lots avec atteinte précoce, soit uniquement respiratoire (lots 2 et 3),
- un lot avec atteinte mixte respiratoire et articulaire (lot 1).

Seuls deux des trois élevages dans lesquels a été suivi un lot (lots 1 et 2) présentaient une récurrence de la pathologie sur les lots précédents. Par contre, les lots étudiés n'avaient jamais présenté d'épisode d'ORT précédemment.

Dans tous les cas, les antibiogrammes ont montré une sensibilité à la tiamuline avec des CMI relativement faibles.

Tableau 1 : *Caractéristiques des lots et commémoratifs*

		Lot 1	Lot 2	Lot 3
Espèce		Dindes chair	Dindes chair	Dindes chair
Nb mâles (M)		4 386	4 400	3 850 (+ 2 %)
Nb femelles (F)		4 224	4 700	3 550 (+ 2 %)
Vaccination	Entérite hémorragique	Dindoral® (30j)	Dindoral® (28j)	Dindoral® (28j)
	RTI	Aviffa RTI® (17j)	Poulvac® TRT (couvoir)	Aviffa RTI® (couvoir) Nobilis® TRT (17j)
	Maladie de Newcastle	-	-	-
Historique d'ORT dans l'élevage (sur lots précédents)		73j : Tétratime® + carnitine 80j : pas de toux	81j : Tétratime® + Pulmotil®AC 87j : Pulmotil®AC 94j : Pulmotil®AC	Néant
Symptômes observés lors de l'inclusion	Respiratoires	+++	Toux	Toux importante (F surtout), lot amorphe, nombreux becs ouverts
	Locomoteurs	++ (cow-boys + « sur les tarse », fiévreux, mais absence d'arthrites)	-	-
Diagnostic ORT lors de l'essai (jours)		91	70	65
Site isolement ORT		Poumons	Trachée	Poumons, trachée
Antibiogramme tiamuline	Sensibilité	Sensible	Sensible	Sensible
	CMI (µg/ml)	0,16	0,16	0,13
Individus traités		M	M et F	M et F
Système de distribution		Pompe doseuse	Bac de distribution	Bac de distribution

ND = Non Disponible  
F = Femelle  
M = Mâle

La qualité de dissolution du produit était bonne, dans tous les cas où elle a été évaluée (2/3).

## ■ Résultats cliniques

L'efficacité clinique de la tiamuline a été confirmée sur 2 des 3 lots étudiés, dont un lot avec atteinte précoce (lot 2) et un lot avec atteinte mixte, respiratoire et articulaire (lot 1). Les résultats technico-économiques sont bons. Sur le lot 3, la tiamuline a permis d'obtenir une amélioration clinique et une baisse nette de la mortalité pendant le traitement mais une rechute est apparue assez rapidement. Les examens complémentaires ont permis de confirmer la présence d'autres pathogènes.

Tableau 2 : *Résultats cliniques*

		Lot 1	Lot 2	Lot 3
Efficacité	Respiratoire	+++	+++ (disparition de la toux)	Amélioration, persistance de quelques cas de toux (F)
	Locomoteur	+++	-	Quelques boîteux (F)
	Activité	ND	ND	Normale
	Litière	ND	+++	RAS
Mortalité		NA	NA	Baisse nette
Consommation d'eau		Influence	Augmentation	ND
Consommation d'aliments		Influence	ND	ND
GMQ		Influence	ND	ND
Rechute		Non	Non	Oui à 75j

ND = Non Disponible ; NA = Non Applicable  
F = Femelle

## ■ Bilans économiques des lots

Les bilans économiques des 3 lots sont bons.

Pour le lot 3, il est cependant important de préciser que les examens complémentaires suite à la rechute n'ont pas été facturés à l'éleveur, ce qui a permis d'avoir un bilan économique acceptable.

### Lot 1

Qté MEP	8 772	Date de MEP	09/01/2008	
Mortalité	1 093	Taux	12,46	
Qté enlevée	7 679	Qté saisie	227	
Poids enlevé	67 240	Poids saisi	2 214	3,29 %
Poids/m <sup>2</sup>	58,93			
Poids Total	65 558			
Poids/m <sup>2</sup>	57,46			
		Moyenne	Age	Poids
Gain Poids (gr)	84,30	Mâles	117,00	10,95
I.C	2,483	Femelles	89,00	6,27
		Unité	103,87	8,76

### Lot 2

Pas de détails disponibles mais bilan économique réalisé par le vétérinaire positif.

### Lot 3

Qté MEP		Date de MEP	01/09/2008	
Mortalité		Taux		
Qté enlevée	6 791	Qté saisie	91	
Poids enlevé	63 980	Poids saisi	1 028	
Poids/m <sup>2</sup>				
Poids Total				
Poids/m <sup>2</sup>				
		Moyenne	Age	Poids
GMQ M (gr)	104,13	Mâles	123,00	9,42
GMQ F (gr)	70,53	Femelles	85,00	
I.C	2,482	Unité		

F = Femelle  
M = Mâle

### ■ Cas particulier du lot 3

Ce lot a présenté une rechute au 75<sup>e</sup> jour, soit 5 jours après la fin du traitement, avec :

- moins bonne activité du lot,
- recrudescence importante de la toux et apparition d'arthrite chez les femelles,
- difficultés locomotrices chez les mâles.

De nouveaux prélèvements sont alors réalisés et ORT est de nouveau isolé, y compris sur les lésions articulaires. L'antibiogramme du liquide articulaire montre une sensibilité à la tiamuline avec une CMI à 0,05 µg/ml.

Un traitement à base de tilmicosine (PULMOTIL® AC) a été mis en place à 78 jours sur les mâles à la dose de 40 ml/tonne pendant 5 jours. Le choix du traitement a été réalisé avant de connaître les résultats de la bactériologie en raison de l'importance des signes cliniques.

Malgré ce traitement, des cas d'arthrites persistent à 85 jours.

Les analyses complémentaires ont montré l'implication sur l'élevage de :

- Adénovirus, agent de l'entérite hémorragique,
- Pneumovirus RTI,
- Paramyxovirus.

Il est donc très difficile de conclure sur ce lot car nous ne pouvons évaluer l'importance de ces infections secondaires.

### 3. Discussion

Les résultats de cet essai confirment l'efficacité de la tiamuline (DENAGARD® Solution buvable 12.5 %) sur l'ORT chez la volaille.

La dose hors AMM de 80 ml/kg de PV/j pendant 5 jours, testée dans cet essai, semble être adaptée aux cas d'ORT respiratoire comme d'ORT mixte, respiratoire et articulaire, même si le nombre de lots étudiés est faible. Un essai incluant un plus grand nombre de lots serait à envisager pour le confirmer. Une seconde série d'essais est d'ailleurs en cours sur 3 autres lots pour confirmer ces premières tendances.

L'efficacité de la tiamuline orale pourrait être plus limitée sur des cas très avancés avec atteinte articulaire importante. En effet, sur ces populations, l'atteinte locomotrice est telle que les animaux se déplacent peu et il se pose alors le problème de l'administration de l'antibiotique. De plus, la diffusion de l'antibiotique est limitée au niveau des articulations ce qui pourrait justifier une posologie adaptée à ces formes spécifiques de la pathologie.

La dose de 80 ml/ kg de PV/j est la posologie minimale de l'AMM et c'est celle qui a été choisie dans cet essai afin de confirmer son efficacité clinique. L'avantage est bien évidemment économique pour l'éleveur.

Les auteurs rappellent également qu'à cette dose, la tiamuline est peu amère ce qui permet de limiter l'impact sur la consommation d'eau. A l'inverse, à des doses plus importantes comme 160 ml/kg de PV/j, les auteurs conseillent l'ajout d'un édulcorant comme un hépato-protecteur.

Enfin, il est important de rappeler qu'une contre-indication majeure de la tiamuline est l'utilisation concomitante de ionophores car on s'expose alors à une compétition hépatique entraînant des surdosages mortels. Par conséquent, avant chaque prescription, il est impératif de vérifier la composition des formules d'aliments en cours de distribution. C'est d'ailleurs peut-être pour cette raison que son utilisation en pratique est limitée aujourd'hui.

Pourtant, il est important de rappeler que les anticoccidiens sont généralement utilisés dans la première partie de vie des volailles. A l'inverse, les infections à ORT apparaissent généralement en deuxième partie de vie lorsque l'éleveur n'utilise plus de ionophores. Ceci ne devrait donc pas empêcher le vétérinaire de prescrire de la tiamuline qui reste un antibiotique de choix dans la gestion des cas d'ORT si on considère l'absence de résistances connues à ce jour.

### Références bibliographiques

- 1 Chin et Droual, *Ornithobacterium rhinotracheale* infections. Disease of Poultry, 10<sup>th</sup> edition, 1997, 1012-1015.
- 2 Devriese et coll., *In vitro* antibiotic sensitivity of OR strains from poultry and wild birds. The Vet Record, 1995,137, 435-436.
- 3 Empel et Hafez, *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. Avian Pathology, 1999, 28, 217-227.

## Usage de la doxycycline en aviculture évolution réglementaire et données récentes

### INTERVENANT

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Eric BOUSQUET**  
LABORATOIRE VIRBAC, Carros, France

*Une synthèse des données pharmacologiques et cliniques relatives à la doxycycline en aviculture est présentée. Au vu de ces données la doxycycline reste une molécule d'actualité dont les propriétés pharmacologiques sont supérieures à celles des tétracyclines de 1<sup>re</sup> génération (oxytétracycline, chlortétracycline, tétracycline). La posologie recommandée dans l'eau de boisson est de 20 mg/kg/lj chez le poulet et 25 mg/kg/lj chez la dinde. Ces recommandations s'inscrivent dans le cadre des bonnes pratiques de l'antibiothérapie.*

## Introduction

La doxycycline fait partie des tétracyclines qui possèdent un large spectre comprenant les bactéries gram positives et gram négatives ainsi que les mycoplasmes. Il s'agit d'une tétracycline de seconde génération plus liposoluble que les tétracyclines de première génération (tétracycline, oxytétracycline, chlortétracycline). Cette liposolubilité confère à la doxycycline un passage transmembranaire augmenté, d'où une meilleure activité antibactérienne ainsi qu'une résorption digestive et une diffusion tissulaire accrues. Les spécialités orales à base de doxycycline autorisées en aviculture dans la Communauté Européenne ont été récemment réévaluées à l'occasion d'une procédure d'arbitrage initiée par la Grande-Bretagne. L'objectif de cette présentation est de passer en revue les données disponibles sur la doxycycline chez le poulet et la dinde ayant conduit à la définition d'un schéma posologique pour une spécialité récemment enregistrée en France.

## 1. Activité de la doxycycline sur les pathogènes aviaires

Plusieurs études publiées en Europe mettent en évidence l'activité *in vitro* de la doxycycline sur différents pathogènes aviaires, les concentrations minimales inhibant 90 % des souches (CMI<sub>90</sub>) étant comprises entre 0,06 et 2 µg/ml (tableaux 1-2).

Le groupe vétérinaire du comité de l'antibiogramme recommande de classer une souche bactérienne sensible aux tétracyclines si la CMI est inférieure ou égale à 4 µg/ml, ce qui correspond à un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 19 mm. Ce diamètre critique a été récemment validé vis-à-vis d'*Ornithobacterium rhinotracheale* (germe à croissance

lente) pour la doxycycline alors que le diamètre critique était revu à la hausse pour la tétracycline (23 mm). Il en résulte des pourcentages de sensibilité de 91 % à la doxycycline et de 45 % à la tétracycline sur 365 souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées de dindes présentant des troubles respiratoires et/ou locomoteurs dans l'ouest de la France entre 2006 et 2007 (2).

Concernant *Escherichia coli*, les pourcentages de résistance aux tétracyclines observés en aviculture ne permettent pas d'envisager une activité thérapeutique (5).

Tableau 1 : CMI des tétracyclines vis-à-vis de *Mycoplasma gallisepticum*

Pays	n	Molécule	CMI (µg/ml)		Référence
			Etendue	CMI <sub>90</sub>	
Allemagne	46	OTC	1 - 32	16	12
Hongrie	46	Doxy	0,06 - 1	0,5	
France	8	Doxy	0,06 - 0,5	0,5	8

Tableau 2 : CMI de la doxycycline vis-à-vis de différents pathogènes aviaires

Bactérie	Pays	n	CMI (µg/ml)		Référence
			Etendue	CMI <sub>90</sub>	
<i>Mycoplasma synoviae</i>	F	36	≤ 0,06 - 0,125	0,125	3
	NL	17	0,03 - 0,25	0,125	7
<i>Pasteurella multocida</i>	D	28	0,06 - 8	2	13
<i>Chlamydia psittaci</i>	I	20	0,003 - 0,06	0,06	1

## 2. Pharmacocinétique de la doxycycline chez le poulet et la dinde

Les études publiées montrent une absorption orale de la doxycycline nettement plus élevée que celle de l'oxytétracycline, une large diffusion tissulaire et une élimination plus lente (tableau 3).

La pharmacocinétique d'une spécialité orale à base de doxycycline (Pulmodox® 500, Virbac) a été récemment étudiée chez le poulet et la dinde. Lors de l'administration en continu dans l'eau de boisson,

les concentrations plasmatiques moyennes à l'état d'équilibre sont respectivement égales à 2,1 µg/mL chez le poulet et 2,4 µg/ml chez la dinde aux posologies respectives en doxycycline de 20 mg/kg/j et 25 mg/kg/j. Ces concentrations sont supérieures aux CMI<sub>90</sub> des principaux pathogènes aviaires sensibles à la doxycycline.

### 3. Efficacité clinique de la doxycycline chez le poulet et la dinde

Selon un modèle d'infection expérimental à *Pasteurella multocida* chez le poulet de chair, la doxycycline administrée dans l'eau de boisson à la posologie de 10 mg/kg/j pendant 5 jours est plus efficace que la chlortétracycline à la posologie double sur la base de scores cliniques, lésionnels et bactériologiques (tableau 4).

Les études cliniques de la spécialité Pulmodox® 500 selon un modèle d'infection expérimental à *Mycoplasma gallisepticum* ont montré une efficacité aux posologies en doxycycline de 20 mg/kg/j chez le

poulet et de 25 mg/kg/j chez la dinde pendant 5 jours significativement plus élevée que celle obtenue aux posologies de 10 mg/kg/j chez le poulet et 12,5 mg/kg/j chez la dinde (l'efficacité était évaluée sur la base de critères cliniques, zootechniques et lésionnels).

Ainsi, à la fois les données pharmacologiques et cliniques valident les schémas posologiques en doxycycline de 20 mg/kg/j chez le poulet et 25 mg/kg/j chez la dinde (pendant 5 jours).

### 4. Sécurité de l'animal et du consommateur lors de l'usage de doxycycline

Les études de tolérance de la spécialité Pulmodox® 500 chez le poulet et la dinde montrent l'absence d'effet indésirable à 5 fois la dose thérapeutique pendant une durée double de celle préconisée (suivi clinique et des consommations en eau et en aliment pendant le traitement, examens hémato-biochimiques et nécropsiques 6 jours après l'arrêt du traitement).

Les études de déplétion tissulaire dans les différents tissus consommables de cette spécialité selon les schémas posologiques retenus ont été conduites conformément à la ligne directrice européenne

EMEA/CVMP/036/95-FINAL. Cette approche définit le temps d'attente comme le délai au bout duquel 95 % des sujets susceptibles d'être traités ont une concentration en principe actif inférieure à la Limite Maximale de Résidus dans tous les tissus consommables. Ce temps d'attente est estimé avec un intervalle de confiance de 95 %. Ces études ont permis de définir un temps d'attente de 5 jours chez le poulet et 12 jours chez la dinde pour la spécialité testée.

Tableau 3 : *Caractéristiques pharmacocinétiques des tétracyclines chez le poulet et la dinde*

Paramètre	Doxycycline		Oxytétracycline
	Poulet	Dinde	
Biodisponibilité absolue (F)	61 %	53 %	9,4 %
Volume de distribution (Vss)	2,1 l/kg	2,1 l/kg	-
Temps de demi-vie ( $t_{1/2 \beta}$ )	6,8 h	10,8 h	0,7 h
Référence	6-10	9	4

Tableau 4 : *Efficacité des tétracyclines contre une infection expérimentale à *Pasteurella multocida* chez le poulet de chair (11)*

Traitement	Mortalité	Scores lésionnels	Scores cliniques		Scores bactériologiques
			Traitement	Post traitement	
0	17/20	5,90	1,97	3,04	111
DC : 10 mg/kg/j	1/20	0,35	0,06	0,0	7
CTC : 20 mg/kg/j	15/20	5,15	1,81	1,69	86

DC : doxycycline

CTC : chlortétracycline

Durée du traitement : 5 jours à partir de l'inoculation

## 5. Contexte réglementaire de l'usage de la doxycycline en aviculture

Une procédure d'arbitrage a été initiée par la Grande-Bretagne en janvier 2009 à propos des écarts de RCP (Résumé des Caractéristiques du Produit) entre les différentes spécialités orales de doxycycline enregistrées dans la Communauté Européenne et destinées aux volailles. Ces différences portent notamment sur les espèces cibles, les indications et les schémas posologiques. En février dernier, le Comité Européen des Médicaments Vétérinaires (CVMP) a rendu ses conclusions en prenant acte du manque d'harmonisation de ces RCP mais en ne les remettant pas en cause. Néanmoins le CVMP demande l'ajout de plusieurs

recommandations sur le RCP des spécialités concernées. Ces recommandations portent sur la réalisation d'analyses bactériologiques et de tests de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées à partir de prélèvements sur des sujets de l'élevage ainsi que sur le contrôle de la posologie selon le poids vif et la consommation en eau des sujets traités. Des recommandations sur les bonnes pratiques d'élevage doivent également accompagner l'antibiothérapie.

## Conclusion

La doxycycline est toujours une molécule d'actualité en aviculture dont les propriétés pharmacologiques sont supérieures à celles des tétracyclines de première génération. Historiquement la posologie recommandée était de 10 mg/kg/j pour cet antibiotique chez les volailles. Néanmoins les données les plus récentes justifient une posologie plus élevée (20 mg/kg/j chez le poulet et 25 mg/kg/j chez la dinde). Ces nouveaux schémas posologiques s'inscrivent dans le cadre des bonnes pratiques de l'antibiothérapie visant à limiter l'apparition de souches résistantes.

## Références bibliographiques

- 1 Donati M., Pollini G.M., Sparacino M., Fortugno M.T., Laghi E., Cevenini R. Comparative *in vitro* activity of garenoxacin against *Chlamydia* spp. J. Antimicrob. Chemother. 2002, 50, 407-410.
- 2 Duivon D., Viloux N. Etude de la sensibilité de 120 souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale*, isolées de dindes atteintes de troubles respiratoires ou locomoteurs, aux cyclines, tétracycline et doxycycline, par détermination de CMI et de diamètres d'inhibition. RIPPA 2008, 21-36.
- 3 Dufour-Gesbert F., Dheilly A., Marois C., Kempf I. Epidemiological study on *Mycoplasma synoviae* infection in layers. Vet. Microbiol. 2006, 114, 148-154.
- 4 Dyer D.C. Pharmacokinetics of oxytetracycline in the turkey : Evaluation of biliary and urinary excretion. Am. J. Vet. Res. 1989, 50, 522-524.
- 5 Farm 2005-2006. Programme français de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale.
- 6 Laczay P., Semjén G., Lehel J., Nagy G. Pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline in fasted and non fasted broiler chickens. Acta Vet. Hungarica 2001, 49, 31-37.
- 7 Landman W.J.M. ; Mevius D.J., Veldman K.T., Feberwee A. *In vitro* antibiotic susceptibility of Dutch *Mycoplasma synoviae* isolates originating from joint lesions and the respiratory tract of commercial poultry. Avian Pathol. 2008, 37, 415-420.
- 8 Pinsard J.L. Determination of minimum inhibitory concentrations of doxycycline in liquid broth against *Mycoplasma gallisepticum* strains isolated in France. Bio Chêne Vert Report 2009.
- 9 Santos M.D.F., Vermeersch H., Remon J.P., Schelkens M., De Backer P., Van Bree H.J.J., Ducatelle R., Haesebrouck F. Pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline in turkeys. J. Vet. Pharmacol. Therap. 1996, 19, 274-280.
- 10 Semjén G., Nagy G., Klebovich I., Grezal Gy., Romvary A., Laczay P., Lehel J. Pharmacokinetics of orally administered doxycycline and chlortetracycline in chickens. Proc. 6th EAVPT congress 1994, 221, Edinburgh.
- 11 Semjén G., Magyar T., Laczay P. Therapeutic efficacy of doxycycline against experimental *Pasteurella multocida* infection in broiler chickens. Acta Vet. Hungarica 1998, 46, 85-93.
- 12 Stipkovits L. Antimicrobial susceptibility testing of recent clinical isolates of *Mycoplasma gallisepticum* in poultry from Hungary and Germany. Internal report 2009.
- 13 Wallmann J., Schröer U., Kaspar H. Quantitative resistance level (MIC) of bacterial pathogens (*Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*) isolated from chickens and turkeys: national resistance monitoring by the BVL 2004/2005. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 2007, 120, 452-463.

## La tylvalosine en production avicole

### INTERVENANT

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Dieter  
VANCRAEYNEST<sup>(1)</sup>**  
ALPHARMA, Anvers, Belgique

**Fabienne Nérat<sup>(1)</sup>, Mark Lowden<sup>(2)</sup>  
et John Tasker<sup>(2)</sup>**

<sup>(1)</sup>Alpharma Animal Health,  
Laarstraat  
16, Anvers, Belgique

<sup>(2)</sup>Eco Animal Health,  
78 Coombe Road, New Malden,  
Royaume-Uni

*La tylvalosine est un antibiotique macrolide récemment autorisé en volaille (sur poulet et faisan – *Mycoplasma gallisepticum*). Grâce à sa structure chimique, elle présente très souvent une activité contre les souches de bactéries qui ont acquis une résistance aux autres macrolides. En élevage, la tylvalosine a montré principalement des effets bénéfiques dans le traitement et la prévention des pathologies respiratoires et systémiques telles que les mycoplasmoses et les infections à *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT). La tylvalosine contribue également à lutter contre les infections bactériennes par ses effets sur le système immunitaire. La présentation aux RIPPA montre les bénéfices de la tylvalosine en production de volailles, en présentant des essais cliniques et des données de CMI.*

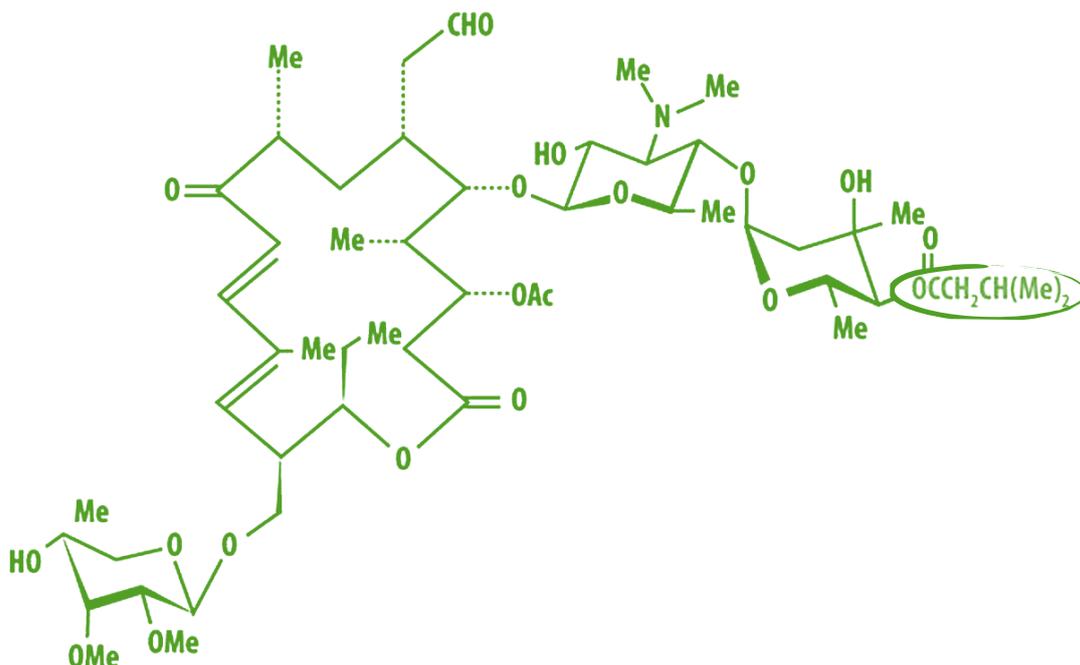
## Introduction

Parmi les antibiotiques, la classe des macrolides est souvent utilisée pour traiter ou contrôler les maladies en production avicole industrielle. Cette classe d'antibiotiques est particulièrement active contre les espèces du genre *Mycoplasma* et les bactéries Gram positif, mais certaines espèces de bactéries Gram négatif y sont également très sensibles.

Récemment, la tylvalosine, un nouveau macrolide, a été autorisé chez les volailles sous le nom commercial d'Aivlosin® (Eco Animal Health, distribué en France par Alpharma Santé Animale). Sa structure chimique, molécule de 3-Acétyl, 4-Isovaléryl 16 C lactone (Figure 1), lui confère une activité contre les souches de bactéries qui ont acquis une résistance aux autres macrolides (Tableau 1). Le groupement isovaléryl de la molécule augmente sa solubilité dans les lipides (lipophilicité), ce qui explique probablement sa pénétration plus rapide et sa concentration plus forte dans les cellules, comparativement à la tilmicosine ou la tylosine (Stuart et al., 2007). Ce groupement isovaléryl augmente aussi la pénétration de la tylvalosine à l'intérieur des agents pathogènes et sa liaison à la sous-unité 50S des ribosomes des bactéries, où elle inhibe la synthèse protéique. Après administration orale, la tylvalosine est rapidement absorbée et rapidement distribuée dans les principaux organes. La tylvalosine est retrouvée à des concentrations élevées dans la muqueuse trachéale, les sacs aériens, l'intestin et la muqueuse intestinale. Le principal métabolite de la tylvalosine est le 3-O-acétyltylosine (3-AT), son activité microbiologique est égale à celle du composé parent car ce métabolite se lie, lui aussi, aux ribosomes bactériens. De plus, la tylvalosine et le 3-AT se fixent sur deux sites de liaisons ribosomiques différents.

En production avicole industrielle, l'utilisation de la tylvalosine procure essentiellement des bénéfices dans le traitement et la prévention des maladies respiratoires ou systémiques, telles que la mycoplasmoses et les infections à *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT).

Figure 1 : La molécule de tylvalosine, avec son groupement isovaléryl, entouré ci-dessous.



**Tableau 1 : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de la tylosine, de la tylvalosine et de l'érythromycine contre une sélection de souches de *Mycoplasma gallisepticum* provenant du Japon et de l'Union Européenne.**

Effet de la tylvalosine sur les souches de *Mycoplasma gallisepticum* résistantes\* à la tylosine

Souches japonaises	Tylosine CMI (µg/ml)	Tylvalosine CMI (µg/ml)	Erythromycine CMI (µg/ml)
E-5	10,0	0,62	100
E-11	5,0	0,31	100
A-68	2,5	0,31	100
A-72	2,5	0,31	100
Souches européennes			
14350-94	2,0	0,06	
14267-95	2,0	0,125	
B139-02	2,0	0,125	
B-141-02	4,0	0,25	

\*Une souche présentant une CMI de 2 µg/ml ou plus peut être considérée comme résistante.

## I. Tylvalosine et mycoplasmosse

### ■ Prévention de la mycoplasmosse chez le poulet de chair

L'utilisation de la tylvalosine en prévention de *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) a été étudiée dans un essai mené en Hongrie. Lors de cet essai, 3000 poussins issus de reproducteurs Mg positifs ont été répartis dans dix parquets. Quatre parquets ont reçu de la tylvalosine à raison de 25 mg/kg de PV pendant les 3 premiers jours de vie, puis à raison de 15 mg/kg de PV des jours 16 à 19. Quatre autres parquets ont reçu de la tylosine dosée à 500g/1000l d'eau de boisson, pendant 3 jours (des jours J0 à J2) et le jour 22. Deux parquets n'ont reçu aucun traitement pour servir de témoins négatifs. Le principal critère d'évaluation de cet essai était le score clinique, qui s'appuyait sur les lésions observées dans la trachée, les sacs aériens et le mésentère. Le jour 34, le score clinique du groupe sous tylvalosine était significativement inférieur à celui des témoins et les jours 15, 18, 20 et 27, il était significativement inférieur à celui du groupe témoin et à celui du groupe sous tylosine. Par ailleurs, le pourcentage d'échantillons Mg positifs le jour 34 était significativement inférieur chez les oiseaux traités par tylvalosine, comparativement à ceux traités par tylosine et aux témoins négatifs.

### ■ Traitement de la mycoplasmosse chez le poulet de chair

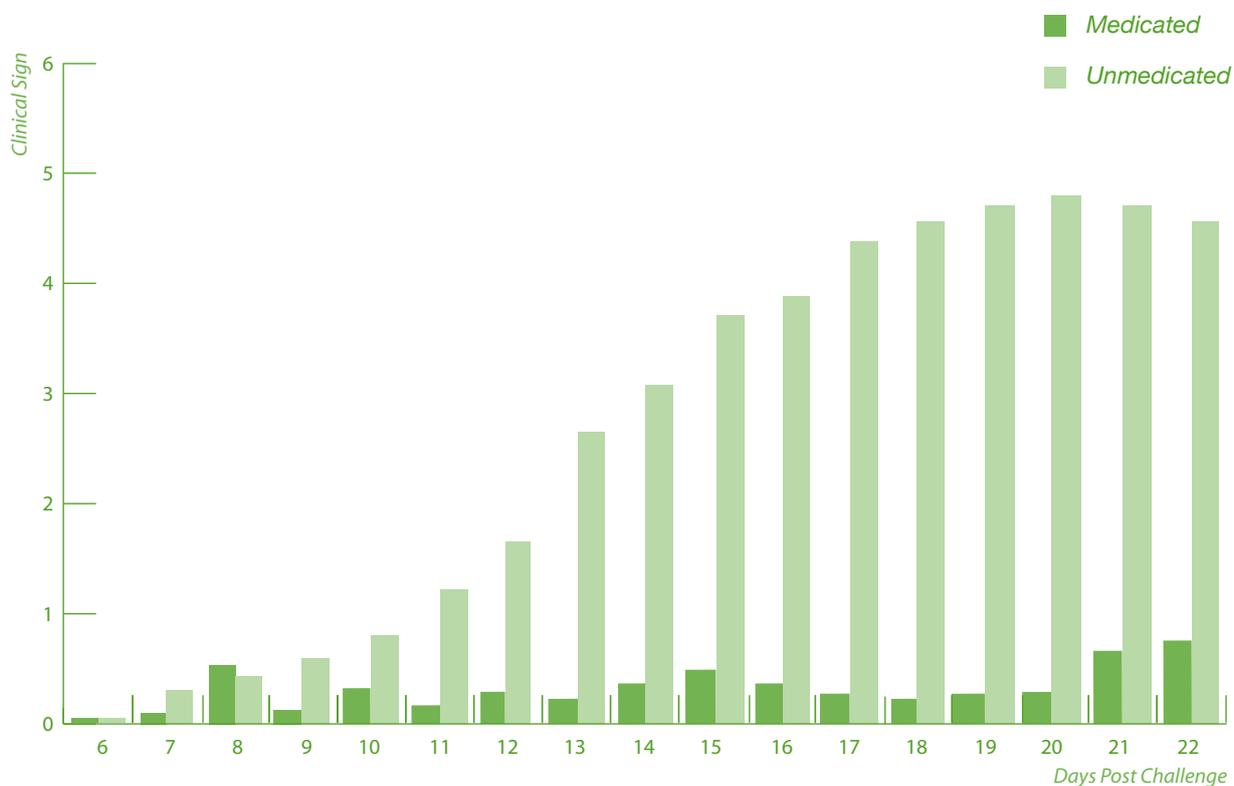
L'utilisation de la tylvalosine en traitement de Mg a été étudiée dans un essai organisé de façon similaire à celui sur la prévention mentionné précédemment – avec 3000 poussins issus de reproducteurs Mg positifs, répartis dans dix parquets. Cet essai différait de l'essai précédent sur la prévention par le moment d'administration des antibiotiques : un traitement de trois jours par tylvalosine ou tylosine (respectivement dosées à 25 mg/kg de PV et 500g/1000l d'eau de boisson) a été débuté lorsque 5 % des animaux ont présenté des signes

cliniques de mycoplasmosse ; ils étaient alors âgés de 20 jours. Les résultats de cet essai ont montré un nombre d'oiseaux malades et de lésions significativement inférieur dans le groupe sous tylvalosine, comparativement aux oiseaux traités par tylosine et aux témoins négatifs. De plus, le poids vif, à 34 jours, des animaux traités par tylvalosine était significativement plus élevé (1,946 kg) que celui des témoins négatifs (1,832 kg). Par ailleurs, le nombre de bactéries isolées de la trachée, des sacs aériens, des poumons, du foie, de la rate et du cœur était significativement moins élevé dans le groupe traité par tylvalosine que dans le groupe traité par tylosine et dans le groupe non traité.

### ■ Faisans : traitement de la mycoplasmosse

Les espèces du genre *Mycoplasma* sont également un problème pour la production de faisans. Les effets d'un traitement par tylvalosine ont récemment été étudiés lors d'un essai chez des faisans inoculés avec Mg. Pour cet essai, 72 faisans répartis dans 6 parquets ont reçu une inoculation intra-nasale de Mg au jour 14. Huit jours après l'inoculation, lorsque 25 % des faisans présentaient des signes cliniques (larmolement, conjonctivite, dépression, exsudat nasal, gonflement des sinus, éternuements, halètement), trois parquets ont été traités par tylvalosine à raison de 25 mg/kg pendant trois jours. Les trois autres parquets n'ont reçu aucun traitement. Dans un septième parquet, 12 faisans ont servi de témoins non inoculés. Tous les oiseaux ont fait l'objet d'une évaluation quotidienne des signes cliniques jusqu'à 14 jours après le traitement (Figure 2). De plus, des échantillons ont été prélevés du sinus infra-orbital et de la surface de l'œil par écouvillon pour la détection de Mg et pour déterminer sa vitesse de croissance. A la fin de l'essai, tous les paramètres contrôlés montraient une amélioration significative dans le groupe traité par tylvalosine.

**Figure 2 : Signes cliniques des faisans inoculés avec Mg et traités par tylvalosine, ou non traités, en fonction du temps après l'inoculation.**



## 2. Tylvalosine et infections à ORT

Les CMI de la tylvalosine contre des souches d'ORT issues de poulets de chair et de dindes, isolées en Afrique du Sud, en Allemagne, en France, au Royaume-Uni et en Hongrie (Tableau 2), déterminées *in vitro*, étaient faibles, même contre les souches résistantes aux autres macrolides.

**Tableau 2 : CMI et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) de plusieurs agents antibiotiques contre dix isolats d'*Ornithobacterium rhinotracheale* provenant de Hongrie.**

Varga et al., 2001	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	VALEURS EXTREMES	CMB
Amoxicilline	0,12	≥ 64	≤0,06-≥64	-
Enrofloxacin	4	8	≤0,06-8	-
Lincomycine	1	32	1-32	-
Oxytétracycline	4	4	2-8	-
Tylosine	0,12	4	≤0,06-8	-
Tilmicosine	0,12	0,25	≤0,06-1	-
<b>Varga, 2002</b>				
Tilmicosine	0,12	0,5	≤0,06-1	0,25-4
Tylvalosine	0,12	0,12	≤0,06-0,12	0,12-0,25

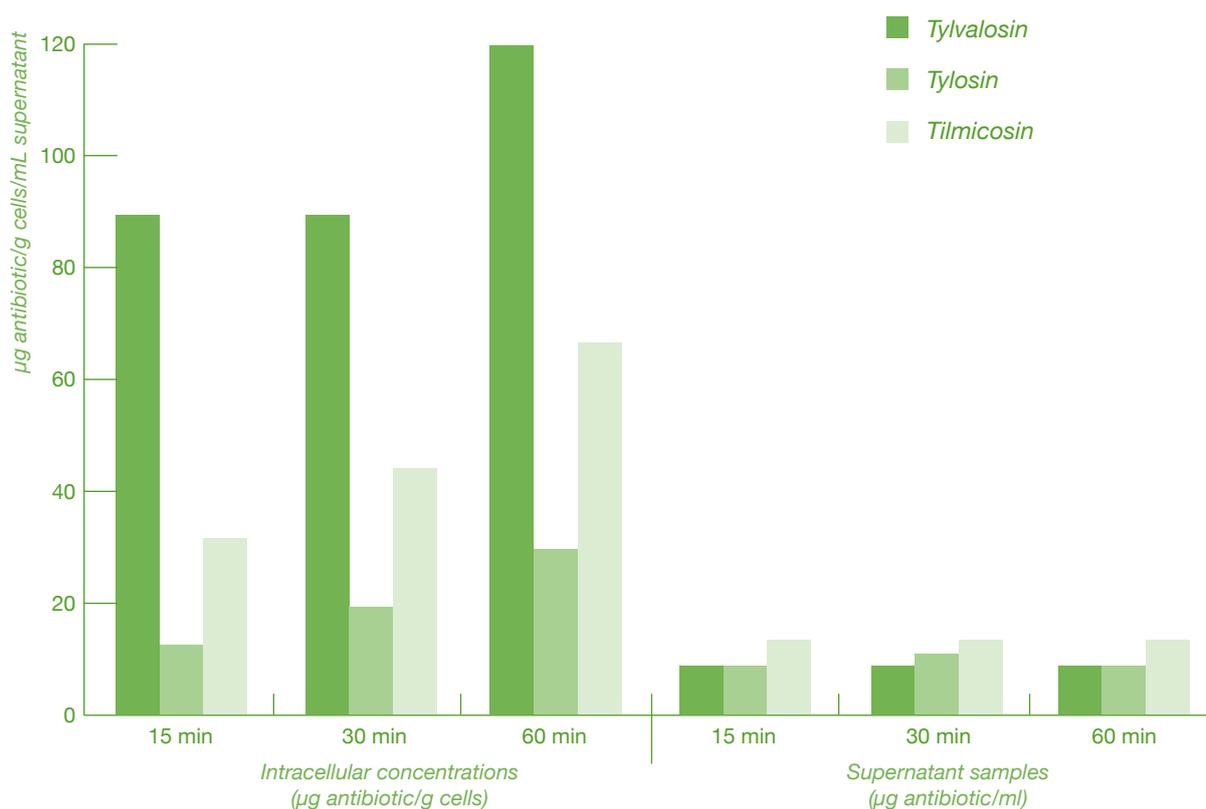
Un essai *in vivo* mené par Cerdá et al. (2009) montre que le traitement par tylvalosine (25 mg/kg de PV pendant 5 jours) réduit les scores lésionnels dans les sacs aériens et les poumons des oiseaux ayant été inoculés deux jours avant avec une souche d'ORT, une souche de *Mycoplasma synoviae* résistante à la tylosine ou une association des deux.

### 3. Effets de la tylvalosine sur les globules blancs

Outre ses effets antibiotiques directs, la tylvalosine contribue également à la lutte contre les infections bactériennes par ses effets sur le système immunitaire. Comme les autres macrolides, la tylvalosine s'accumule dans les globules blancs des poulets, mais les concentrations intracellulaires observées sont plus élevées que celles obtenues avec la tylosine ou la tilmicosine

(Figure 3). Cette molécule induit également la différenciation des monocytes en macrophages, active les macrophages au repos et se concentre dans les lysosomes. Ces effets facilitent la destruction des agents pathogènes par le système immunitaire de l'hôte et contribue ainsi à surmonter la maladie (Stuart et al. 2007 et ECO Animal Health, données sur fichier - interne).

**Figure 3 : Concentrations de tylvalosine, de tylosine et de tilmicosine dans des globules blancs de poulets en fonction du temps (détermination *in vitro*).**



## Conclusions

La tylvalosine est un macrolide dont l'emploi a récemment été autorisé en production avicole industrielle. Ses propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques en font un produit de choix contre les maladies respiratoires dues aux espèces du genre *Mycoplasma* et à *Ornithobacterium rhinotracheale*. Outre ses propriétés antibiotiques directes, la tylvalosine produit des effets sur le système immunitaire des oiseaux, constituant ainsi un atout supplémentaire pour surmonter la maladie.

## Références bibliographiques

- 1 Cerdá R., Uriarte J., Origlia J., Petruccelli M., 2009. Experimental dual challenge with *Ornithobacterium rhinotracheale* and *Mycoplasma synoviae* in broilers. 58th Western Poultry Disease Conference (WPDC). Sacramento, California, USA.
- 2 Eco Animal Health, données sur fichier, interne.
- 3 Stuart A.D., Brown D., Imrie G., Tasker J.B., Mockett A.P.A., 2007. Trans-epithelial transport and intracellular accumulation of macrolide antibiotics. The 15<sup>th</sup> Congress & Exhibition of the World Veterinary Poultry Association.
- 4 Varga J., Fodor L., Makrai L., 2001. Characterisation of some *Ornithobacterium rhinotracheale* strains and examination of their transmission via eggs. *Acta Vet Hungary* 49(2): 125-130
- 5 Varga J., 2002. Susceptibility of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains for Aivlosin compared to Tilmicosin. ECO report.

## **Démarche Guide de Bonnes Pratiques du Médicament Vétérinaire :** **« Une réponse aux préoccupations des consommateurs, des filières et des vétérinaires »**

### **INTERVENANTE**

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Jacqueline BASTIEN**  
SNGTV, Brassac-les-Mines, France

*Le médicament vétérinaire est au carrefour des préoccupations des filières de productions animales, de l'industrie pharmaceutique, des vétérinaires et des consommateurs. Pour répondre à ces préoccupations, la SNGTV propose une démarche visant à promouvoir les bonnes pratiques de gestion du Médicament Vétérinaire dans les structures vétérinaires. Cette démarche repose sur un référentiel, le Guide de Bonnes Pratiques d'utilisation et de gestion du médicament vétérinaire et sur une reconnaissance officielle de la mise en œuvre de ce référentiel par les structures vétérinaires.*

## Introduction

*Le médicament vétérinaire est au carrefour des préoccupations des filières de productions animales, de l'industrie pharmaceutique, des vétérinaires et des consommateurs. Pour répondre à ces préoccupations, la SNGTV propose une démarche visant à promouvoir les bonnes pratiques de gestion du médicament vétérinaire dans les structures vétérinaires. Cette démarche repose sur un référentiel, le Guide de Bonnes Pratiques d'utilisation et de gestion du Médicament Vétérinaire et sur une reconnaissance officielle de la mise en œuvre de ce référentiel par les structures vétérinaires.*

## 1. Préoccupations et exigences en matière de sécurité d'utilisation des médicaments vétérinaires

### ■ Le constat

Les préoccupations et les exigences en matière de sécurité d'utilisation des médicaments vétérinaires sont exprimées par différents acteurs : les citoyens - consommateurs et les professionnels de l'élevage et de la transformation.

Les citoyens – consommateurs sont demandeurs de sécurité des denrées alimentaires d'origine animale (absence de contaminants physiques, chimiques et microbiologiques), de respect du bien-être animal et du respect de l'environnement. Il en résulte, entre autre, que les transformateurs et les distributeurs ont besoin de garanties sur les matières premières (absence de résidus et traçabilité des traitements médicamenteux).

Les éleveurs sont confrontés à des exigences d'ordre économique, pour eux la bonne utilisation du médicament doit apporter l'efficacité des soins tout en répondant aux exigences des acheteurs et des consommateurs.

Globalement les filières de productions animales qui ont été soumises à différentes crises sont soucieuses de mieux maîtriser les risques. Elles souhaitent disposer de garanties sur la gestion et l'utilisation du médicament vétérinaire. Les enjeux sont clairs : éviter l'apparition de crises et réassurer les consommateurs sur la sécurité des produits.

### ■ Conséquences pour les vétérinaires

Pour répondre à ces exigences, les fabricants et distributeurs de médicaments vétérinaires ont réalisé en 20 ans une véritable mutation (Autorisations de Mise sur le Marché, Bonnes Pratiques de Fabrication), suivie par les centrales d'achat et de distribution (Bonnes Pratiques de Distribution et mise en place des procédures qualité).

Le bon usage du médicament et la sécurisation du post AMM reposent sur les vétérinaires et les éleveurs.

Un important dispositif réglementaire encadre la prescription et la délivrance : il vise à la protection de la santé animale et de la santé publique. Ce dispositif est complexe, c'est pourquoi les vétérinaires ont besoin de disposer d'une lecture opérationnelle et de disposer de solutions, d'outils et de moyens pour mieux assumer leurs missions associées de médecins vétérinaires et de responsables de la santé publique. Les vétérinaires ont également besoin de faire connaître et reconnaître les moyens qu'ils mettent en œuvre pour assurer la bonne gestion et la bonne utilisation du médicament vétérinaire.

Pour ces raisons la SNGTV a proposé une démarche « bonnes pratiques du médicament » dès l'année 2003 aux structures vétérinaires. Cette démarche repose sur un référentiel, le Guide de Bonnes Pratiques d'utilisation et de gestion du Médicament Vétérinaire et sur une reconnaissance officielle de la mise en œuvre de ce référentiel par les structures vétérinaires.

## 2. Le Guide de Bonnes Pratiques d'utilisation et de gestion du Médicament Vétérinaire

L'objectif du Guide de Bonnes Pratiques de la SNGTV est de fournir un référentiel aux structures vétérinaires. Ce guide a été établi par un groupe de projet réunissant des vétérinaires praticiens de la SNGTV, des représentants d'autres organisations professionnelles vétérinaires, des spécialistes de la pharmacologie et de la réglementation et des représentants de l'administration (DGAL, DGS).

• **Dans un premier temps, les bonnes pratiques du médicament vétérinaire ont été répertoriées et définies** en utilisant les principes de l'HACCP (HACCP = Hazard Analysis – Critical Control Point : analyse des dangers, maîtrise des points critiques). Cette méthodologie structurante est utilisée depuis plusieurs années dans de nombreux secteurs, en particulier dans les filières agro-alimentaires dans le but de mettre en œuvre des démarches opérationnelles de prévention et de surveillance des dangers de non qualité. Elle consiste, tout au long des processus, à identifier les dangers relatifs à un produit (ou une prestation de service), à les analyser pour rechercher les causes potentielles, pour ensuite, déterminer les points critiques (CCP = Critical Control Point) et les limites à ne pas dépasser en ces points. Les mesures de prévention et de surveillance de l'ensemble des dangers doivent être définies en général afin d'éviter leur apparition, et ce, plus particulièrement au niveau des points critiques.

Les dangers potentiels pris en compte dans l'analyse sont les suivants :

- défaut d'efficacité du médicament vétérinaire lié à une détérioration du produit, à une utilisation non conforme ou à une insuffisance d'efficacité,

- présence de résidus dans une denrée d'origine animale,
- effets non souhaités pour l'utilisateur liés au médicament vétérinaire : effets indésirables tels que définis par le code de la santé publique ou résultant du non-respect des conditions d'utilisation,
- effets non souhaités sur l'animal, liés au médicament vétérinaire ayant pour origine un non-respect des conditions d'utilisation (conservation du médicament vétérinaire, voie d'administration...) ou des effets indésirables tels que définis par le code de la santé publique,
- risque de contamination de l'environnement, lié au médicament vétérinaire, à l'emballage...
- perte de traçabilité.

Pour chaque danger et à chaque étape, les causes possibles de danger, leurs origines et les mesures préventives ont été listées. L'ensemble de ces mesures préventives constitue pour les étapes concernées les « Bonnes Pratiques ».

Chaque Bonne Pratique proposée est reliée à la prévention d'un danger. La justification de toutes les Bonnes Pratiques est un souci permanent de ce guide. L'analyse des dangers est présentée dans la première partie du guide.

• **Dans un deuxième temps les bonnes pratiques et les mesures de surveillance associées ont été regroupées par thème dans un ensemble de 22 fiches.**

Chaque fiche comporte les points suivants :

- Objet et principales réglementations : cette partie présente l'objet de la fiche et indique les principales références réglementaires pour le domaine visé.
- Dangers et étapes concernées : cette partie justifie la prise en compte du thème au vu des dangers à maîtriser et identifie les différentes étapes concernées.
- Bonnes Pratiques : cette partie définit de manière opérationnelle les Bonnes Pratiques à mettre en œuvre en

distinguant des Bonnes Pratiques Prioritaires, en particulier, toutes celles qui sont rattachées à un Point Critique de Maîtrise, et les actions complémentaires.

- Surveillance, enregistrements et documentation : cette dernière partie décrit les actions à mettre en œuvre pour s'assurer régulièrement que les Bonnes Pratiques sont mises en œuvre de manière efficace : enregistrer les éléments de surveillance et, plus généralement, mettre en place une documentation (pertinente et actualisée).

Ces 22 fiches constituent la deuxième partie du guide et le référentiel de bonnes pratiques *sensu stricto*.

Le guide propose 22 fiches thématiques de bonnes pratiques justifiées et les mesures associées à leur surveillance

• **Dans un troisième temps pour faciliter la mise en œuvre des bonnes pratiques ainsi définies, a été conçu un ensemble d'outils opérationnels.**

Ces outils ont pour objet de faciliter la formalisation de certains modes opératoires de travail, de faciliter la mise en place des enregistrements nécessaires à la surveillance et de fournir des éléments de contrôles en vue d'évaluation. De manière plus générale, ils permettent de présenter, à l'intérieur du cabinet, comme à l'extérieur, l'organisation et les principales mesures mises en œuvre pour garantir le respect du GBP.

Il s'agit :

- d'un manuel qualité, support pour formaliser l'organisation interne aux structures vétérinaires,
- de documents d'enregistrement par exemple pour les températures,
- d'un questionnaire d'auto-évaluation.

Le guide propose dans sa troisième partie un ensemble d'outils opérationnels : un manuel qualité, un ensemble de documents d'enregistrement et un questionnaire d'auto-évaluation.

**Le guide a été régulièrement actualisé** en fonction des évolutions réglementaires par exemple la mise en application des nouvelles modalités de prescription (décret du 24 avril 2007). Une nouvelle version prévue courant 2010 intégrera le guide de bonnes pratiques de l'antibiothérapie à l'usage des vétérinaires réalisé par la SNGTV. Le risque d'exposition d'émergence et de dissémination de phénomènes d'antibiorésistance suscite en effet actuellement des inquiétudes légitimes tant au niveau national qu'international. Une menace de perte d'un arsenal thérapeutique lié à l'antibiorésistance pour l'homme et l'animal mérite une prise de conscience et une réflexion approfondie sur le bon usage des antibiotiques chez les vétérinaires comme chez les éleveurs.

### **3. La reconnaissance officielle de la mise en œuvre des bonnes pratiques**

Pour les structures vétérinaires qui souhaitent faire connaître et reconnaître le travail de mise en place des bonnes pratiques du médicament selon le guide promu par la SNGTV, la profession vétérinaire par le canal de Qualitévet propose un processus de reconnaissance officielle : la « Charte des Bonnes Pratiques du Médicament Vétérinaire » (CBPMV).

Obtenir la « Charte des Bonnes Pratiques du Médicament Vétérinaire » constitue en effet pour les structures qui le souhaitent une chance de se positionner comme un acteur de santé publique vétérinaire de proximité responsable, qui s'engage dans une démarche qualité rigoureuse et garantit la qualité de ses prestations en matière de médicament vétérinaire. Les structures qui obtiennent la reconnaissance démontrent leur capacité à tenir à la fois leur rôle prestataire de service de qualité aux éleveurs et leur rôle de garantes de la santé publique.

Cette reconnaissance répond aux exigences d'une certification de service. Pour l'obtenir, les structures s'engagent dans un processus défini par cycle de 3 ans reposant sur un audit initial par tierce personne en année 1, une évaluation sur documents et contrôlée par tierce personne en année 2 et 3. La démarche est pilotée par un comité constitué par un collège d'experts qualité, un collège de vétérinaires praticiens et un collège d'utilisateurs.

Initié en 2006, ce processus ambitieux montre après quelques années d'expérience ses limites : véritable démarche qualité, il est lourd et n'est accessible qu'à des structures disposant ou déployant des moyens humains et matériels importants. Accéder à la charte suppose un travail préalable important en terme d'organisation et d'acquisition de la culture animant les démarches qualité. C'est pourquoi la SNGTV propose actuellement un processus d'engagement progressif sur 3 ans visant à atteindre par étape un niveau de conformité au GBPMV permettant de prétendre à l'obtention de la CBPMV.

## **Conclusion**

La bonne gestion et la bonne utilisation du médicament vétérinaire sont un enjeu majeur pour les consommateurs, les filières et les vétérinaires. Pour faire face à cet enjeu les structures vétérinaires disposent actuellement d'un référentiel reconnu et commun en matière de bonnes pratiques du médicament vétérinaire et d'outils opérationnels facilitant leur mise en œuvre. Les structures disposent aussi d'un moyen de faire connaître et reconnaître les garanties qu'elles offrent aux filières de production animale en matière de bonne gestion et bonne utilisation du médicament vétérinaire : la CBPMV. La démarche bonnes pratiques du médicament s'inscrit dans l'ensemble des démarches de sécurisation des denrées alimentaires entreprises de l'amont à l'aval des filières de production. Il est important qu'elle se déploie dans les années à venir.

## **Effets de la Colistine** sur la flore intestinale digestive au démarrage

### **INTERVENANTE**

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Nadine CARIOU**  
SELVET CONSEIL, Loudéac, France

*Pour tenter de répondre à la question fréquente de l'intérêt d'un traitement antibiotique, et en particulier d'une administration de Colistine par voie orale sur des poussins lors du démarrage, nous avons réalisé l'étude de l'impact d'un tel traitement sur la flore digestive bactérienne Gram- de poussins âgés d'un à quatre jours.*

*Nous nous sommes pour cela placés dans des conditions terrain, afin de nous rapprocher au mieux des problèmes posés actuellement aux éleveurs.*

## Introduction

Pour tenter de répondre à la question fréquente de l'intérêt d'un traitement antibiotique, et en particulier d'une administration de Colistine par voie orale, sur des poussins lors du démarrage, nous avons réalisé l'étude de l'impact d'un tel traitement sur la flore digestive bactérienne Gram- de poussins âgés d'un à quatre jours.

Nous nous sommes pour cela placés dans des conditions terrain, afin de nous rapprocher au mieux des problèmes posés actuellement aux éleveurs.

## 1. Matériels et méthodes

### ■ Choix de l'élevage

Dans cet élevage de poulets de chair de cinq bâtiments, les éleveurs étaient pénalisés par l'irrégularité de leurs résultats. Différentes mesures avaient pourtant été mises en place pour tenter d'améliorer le niveau sanitaire, telles que :

- la chloration de l'eau de boisson, dont l'origine est un puits,
- la vaccination contre la maladie de Gumboro grâce à un vaccin chaud, motivée en partie par la présence d'une fumière sur le site,
- une double désinfection lors du vide sanitaire.

On pouvait observer une mortalité tardive de sujets boiteux.

### ■ Echantillonnage

Nous avons, dès la mise en place, isolé une cinquantaine de poussins, qui ont été démarrés en rond, parmi les autres, mais qui ont reçu de l'eau claire. Le lot de poussins a lui été traité avec de la Colistine buvable à raison de 75 000 UI/kg PV pendant trois jours, selon les recommandations de l'AMM, soit 250 ml/1000 l d'eau de boisson. Le traitement a débuté le soir de la mise en place.

Dix poussins ont été sacrifiés avant le début du traitement, puis dix poussins de chaque lot, traité et non traité, ont été sacrifiés 24, 48, 72 et 96h après le début du traitement.

Deux répétitions ont été réalisées sur deux lots avec un écart de quelques semaines seulement, donc dans des conditions d'élevage très similaires.

### ■ Analyses au laboratoire

Les tubes digestifs ont été prélevés, par pools de cinq, mis en sacs stomacher et broyés.

Différentes dilutions ont été mises en culture sur milieux VRBL, incubées 24h à 37°C pour isoler les coliformes, et à 44°C pour sélectionner *E. coli*.

Les contrôles nécessaires ont été menés en parallèle, et ne seront pas développés ici.

Sur chaque échantillon, nous avons aussi recherché les Salmonelles.

Enfin des sérotypages de *E. coli* ont été réalisés.

## 2. Résultats

Les diagrammes ci-contre montrent une décroissance des Coliformes présents dans le tube digestif des poussins pendant les quatre premiers jours de vie, aussi bien dans le lot traité Colistine, que dans le lot témoin. Les différences entre les deux lots n'étant pas significatives.

Il semble que les Coliformes soient majoritairement des *E. coli*, dont la population subit la même décroissance au cours des quatre premiers jours. Là encore les lots traités et non traités se comportent de la même façon

et les différences entre les deux lots ne sont pas significatives.

Les deux répétitions successives donnent les mêmes résultats, avec une décroissance des Coliformes et des *E. coli* dans les premiers jours de vie des poussins.

Il est à noter qu'avec une méthode différente, la cytométrie de flux, des populations de l'ordre de  $10^6$  à  $10^8$  bactéries dans le tube digestif de poussins d'un jour sont également mesurées dans la bibliographie.

Figure 1 : Dénombrement Coliformes

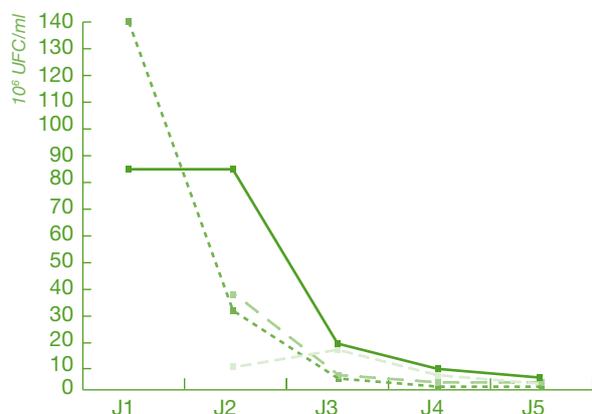
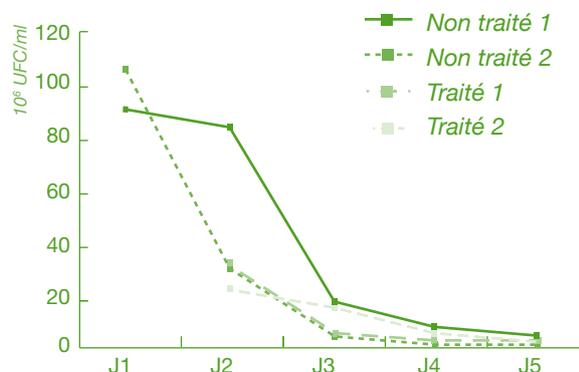


Figure 2 : Dénombrement *E. coli*



Les recherches de Salmonelles sur les tubes digestifs, aux différents âges, sur lots traités et non traités, lors des deux répétitions, se sont révélées négatives.

Lors du deuxième essai, nous avons isolé un *E.coli* O78K80, sur les lots traités et non traités, aux différents âges, soit avant, pendant, et après le traitement colistine. Pour tous les isolements, nous avons eu le même antibiogramme, que nous analyserons ultérieurement.

### 3. Connaissances bibliographiques actuelles sur la flore digestive bactérienne des poulets

Des études récentes à partir de séquençage de l'ARN 16S, montrent que nous ne savons pas cultiver de nombreuses bactéries présentes dans le tube digestif des poulets.

Dès l'âge de trois jours, les bactéries Gram+ s'installent, pour arriver à une grande majorité de Lactobacilles. Dans les caeca, il y aurait une majorité d'anaérobies, et dans l'intestin grêle, des Lactobacilles, Steptocoques, Entérobactéries, Fusobactéries et Eubactéries.

Nos résultats sont cohérents avec les études publiées : la flore digestive Gram- des poussins au démarrage est supplantée à partir du troisième jour par une flore Gram+.

L'importance de la flore digestive est bien connue, et nous rappellerons qu'elle joue un rôle essentiel dans différents domaines :

- elle stimule l'immunité,
- elle inhibe les pathogènes, la flore dite « de barrière » les empêchant de se développer. L'association clostridium – coccidies est par exemple bien connue,
- elle est enfin un facteur de croissance, en permettant la dégradation d'aliments non digestibles par le système enzymatique du poulet, la production d'acides gras volatils, et la synthèse de vitamines. Il est donc primordial dès le démarrage, de ne pas perturber cet équilibre digestif, voire même de l'orienter vers une population favorable au bien-être du poulet et à une amélioration de son indice de conversion.

### 4. Quelques rappels sur la Colistine

- La Colistine est un antibiotique polypeptidique,
- De par sa structure chimique, elle s'insère dans la paroi des bactéries, et peut donc détruire les bactéries en multiplication ou au repos.
- La Colistine ne passe pas la barrière intestinale.
- La Colistine est active sur les bactéries Gram-, *E.coli* ou Salmonelles.

## 5. Discussion

Dans notre essai, la Colistine n'a pas perturbé la flore digestive Gram- des poussins, et puisqu'elle n'est pas active sur la flore Gram+, nous pouvons estimer que cet antibiotique n'a pas eu d'impact négatif sur l'installation d'une flore digestive normale, dont nous avons rappelé l'importance sur la santé, le bien-être et les performances des poulets.

Les deux lots suivis dans cet essai n'ont pas ensuite montré de pathologie ou de mortalité anormale.

La question se pose de savoir si une posologie augmentée ou une durée de traitement supérieure à celle de l'AMM aurait modifié l'évolution des populations de coliformes et de *E.coli*.

Il est intéressant d'étudier l'antibiogramme de *E.coli* O78K80 isolé sur les tubes digestifs des poussins lors de notre deuxième manipulation. La question se pose de savoir si une posologie augmentée ou une durée de traitement supérieure à celle de l'AMM aurait modifié l'évolution des populations de coliformes et de *E.coli*.

Antibiotique	Diam. (mm)	CMI (mg/L)	Résultats
Amoxicilline	6	78 (4-16)	R
Cefalexine C 1G	21	4 (8-32)	S
Tétracycline	21	2 (4-8)	S
Doxycycline	20	3 (4-8)	S
Colistine	21	<2 (2-)	S
Triméthoprim	29	0,42 (4-8)	S
TMP sulfa	28	0,13 (2-8)	S
Ac. Oxolinique	14	8 (2-4)	R
Fluméquine	17	16 (4-8)	R
Ac. Nalidixique	6	56 (8-16)	R
Enrofloxacin	23	0,38 (0,5-2)	S

Selon le Comité Français de l'Antibiogramme, les colibacilles résistants à l'Acide Nalidixique sont résistants à la Fluméquine, et risquent de développer des résistances à l'Enrofloxacin.

## Conclusion

La Colistine n'a pas eu d'impact négatif sur la flore digestive des poussins au démarrage.

Dans le contexte actuel de mise en application de la réglementation sur le bien-être animal, et en particulier de la nécessité de maintenir un taux bas de mortalité sur les lots de poulets, il est important d'évaluer les conséquences éventuelles des mesures correctives ou préventives que nous pouvons mettre en place.

## Références bibliographiques

Lee, M.D. 2002. Microbial Dynamics of the Broiler Intestinal Tract. The Elanco Global Enteritis Symposium.

Puterflam J. 2007. Les entérites non spécifiques du poulet de chair : indicateurs, leviers de maîtrise. Septièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 28 et 29 mars 2007.

Rehman, H. 2007. Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens. Archives of Animal Nutrition, October 2007 ; 61(5) : 319-335

## Remerciements

Dr Julien Avon (Franvet) et l'équipe du laboratoire Selvet Conseil de Moréac, qui ont participé à cette étude.

# Les coûts de supplémentation en coccidiostatiques des aliments volaille

## Mise au point d'une méthode d'évaluation

### INTERVENANTS

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Alain RIGGI**  
**D<sup>r</sup> Vétérinaire Jean-Marie WATIER**  
INTERVET SA, Beaucouzé, France

**Vincent Auvigne<sup>(1)</sup>, Nicolas Serin<sup>(2)</sup>,  
Jean Marie Watier<sup>(3)</sup>, Alain Riggi<sup>(3)</sup>**

<sup>(1)</sup>Ekipaj, 28223 Pozuelo de Alarcón  
(Madrid), Espagne.

<sup>(2)</sup>Stagiaire Ecole Supérieure d'Agriculture  
d'Angers, 49000 Angers, France.

<sup>(3)</sup>Intervet, Rue Olivier de Serres,  
49071 Beaucouzé Cedex, France.

*Une méthode, basée sur le principe des budgets partiels est proposée pour évaluer le coût d'incorporation en coccidiostatiques des aliments volailles. Il s'agit d'une approche personnalisée qui peut s'adapter aux spécificités des entreprises et usines. L'approche comprend deux étapes successives. Dans un premier temps les postes de coûts sont identifiés en collaboration avec des responsables de l'usine et à l'aide d'un guide d'entretien. Dans un second temps, un outil de calcul développé sous Excel permet d'estimer les coûts sous différents scénarios. Au final, l'outil calcule les coûts totaux pour l'usine liés à l'incorporation des coccidiostats, les coûts par tonne d'aliment et par poulet avec leur ventilation suivant les différents postes.*

## Introduction

*Alors que le coût des coccidioses en élevage a fait l'objet de nombreuses études, les coûts directs et indirects au stade de la fabrication de l'aliment et de l'incorporation des coccidiostatiques ont rarement été estimés. Il est par ailleurs possible que ces coûts soient en augmentation avec l'évolution de la réglementation visant à réduire et contrôler les contaminations croisées (Directive Européenne n°2009/8/CE transposée en droit français par l'Arrêté Ministériel publié au JO du 26/11/2009, ainsi que le Règlement n°2009/124/CE). Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était donc de mettre au point une méthode d'estimation au niveau d'une usine d'aliment en incluant les étapes de production, de transport et de livraison.*

## 1. Méthodologie générale

La méthodologie proposée comprend deux étapes. La **première étape** est qualitative et a pour objectif d'identifier les postes de coûts dans l'usine étudiée. Ils peuvent être en effet différents d'une usine à l'autre en fonction des types de production concernés, de l'équipement, de l'organisation générale de l'entreprise. Cette étape se réalise sous forme d'un entretien semi-directif avec les responsables de l'usine à l'aide d'un guide d'entretien et d'une carte heuristique (annexe 1) qui permettent de passer en revue l'ensemble des processus, les différents types d'impacts (coûts et risques) ainsi que les modalités de changement.

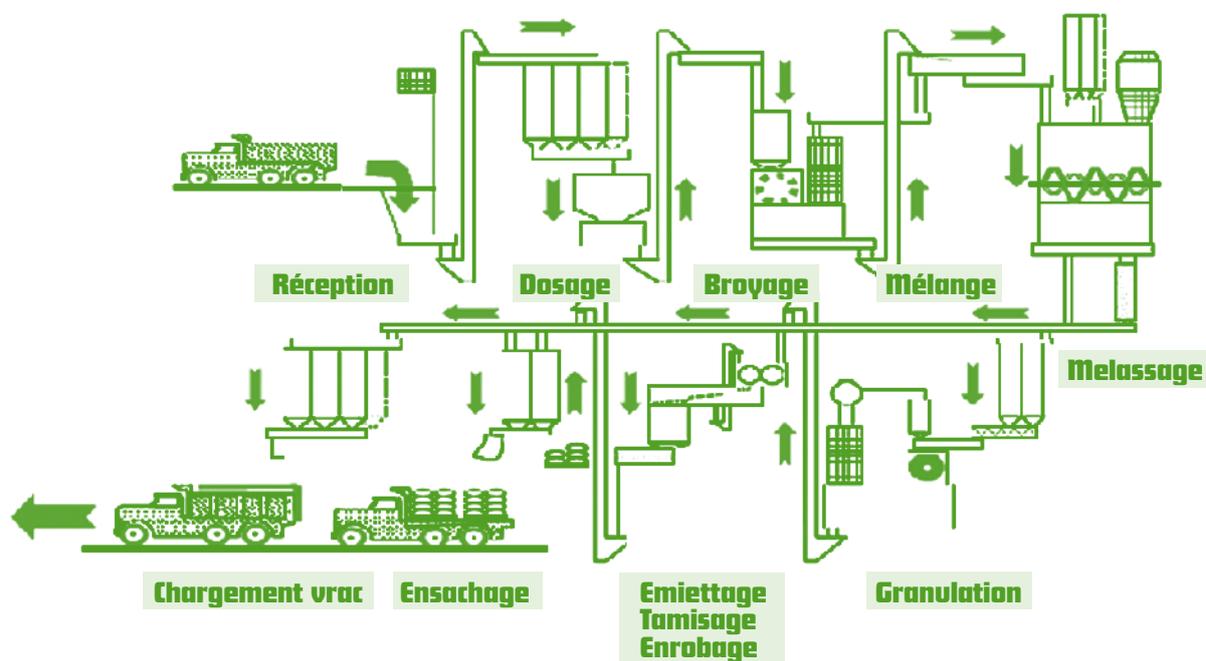
La **seconde étape** a pour objectif de quantifier les coûts qui ont été identifiés lors de la première étape à l'aide d'un outil de calcul développé sous Excel et utilisant la méthode des budgets partiels. Le but est ici est d'explorer au maximum chacun de ces processus pour obtenir des données quantifiables avec d'un côté des coûts, et de l'autre des unités de production ou un rendement (Ex : 2€/T et 2T/h).

## 2. Première étape : identification des postes de coûts

Le guide d'entretien a été élaboré à partir du Guide de Bonnes Pratiques Aliments Composés (GBPAC) et validé par des entretiens approfondis avec les responsables de trois usines d'aliments. Le Guide de Bonnes Pratiques Aliments Composés est aujourd'hui la référence pour certifier les usines dans la démarche HACCP,

il s'inspire du Codex Alimentarius rédigé par la FAO et l'OMS. Le GBPAC détaille les risques et effectue des recommandations à tous les stades de la fabrication (stockage/transferts, dosage, mélange, granulation, émiettage, tamisage et enrobage, conditionnement, transport/livraison, Figure 1).

Figure 1 : Schéma de principe d'une usine en pré-dosage (pré-mélange). Source : TECALIMAN



Deux types d'impacts sont recensés. Le premier regroupe les coûts engendrés par l'addition de coccidiostatiques dans l'usine d'aliment car des mesures de rinçage, nettoyage sont à mettre en œuvre après chaque lot contenant ces additifs. Le deuxième regroupe les risques techniques et réglementaires. Les impacts sont abordés sous forme de questions semi-ouvertes.

### ■ Les coûts

Cette partie se divise en trois thèmes :

- La fabrication : tous les processus entre la réception et le conditionnement, du stockage au rinçage,
- Le transport et la livraison,
- L'état de saturation qui, selon l'usine, entraînera soit une économie soit une hausse du chiffre d'affaires.

#### Stockage

Est-ce qu'il existe une séparation dans le stockage entre les prémix contenant les coccidiostats et les autres prémix sans coccidiostats entraînant un coût logistique plus élevé ?

#### Formulation

Est-ce que l'ajout ou le retrait des coccidiostatiques entraîne des modifications de formules avec des coûts supplémentaires ?

Quel est le coût des coccidiostatiques ? (Impact sur le coût du prémix).

#### Planification

Quel est l'impact de l'ajout de coccidiostatiques sur l'organisation de la production dans l'usine ? Est-ce que les contraintes de suivi de lots peuvent entraîner des incompatibilités qui retardent la fabrication de certains lots (par ex : les lots n+1 ne peuvent pas être donnés à des animaux non cibles sensibles ou servir d'aliment retrait). Quel est l'impact dans la configuration où un lot d'urgence doit être fabriqué pour honorer une commande tardive ?

### Rinçage

Quel est le coût de production du produit de rinçage ? Est-ce une fabrication supplémentaire en petite quantité, donc avec un coût de production élevé ? Quel est le coût des matières premières qui sont utilisées et devront être détruites par la suite ? Quel est le coût du traitement des déchets ? Les produits de rinçage sont-ils détruits ou réintégrés par un système maîtrisé ?

Le temps de rinçage est-il un temps d'arrêt pour l'usine, c'est-à-dire que tous les outils sont en fonctionnement mais aucun ne produit d'aliment ? Quel est l'impact sur les coûts d'électricité, de main d'œuvre, d'amortissement ? Selon la méthode d'incorporation, le nombre de machines impliqué dans cet arrêt sera variable. Par exemple, il y en aura moins dans le cas où les coccidiostatiques sont incorporés par spray en fin de ligne.

### Transport/livraison

Y a-t-il des camions dédiés pour les livraisons d'aliments contenant des coccidiostatiques ? Si oui, quel est l'impact sur le nombre de kilomètres supplémentaires ? Si non, quel est l'impact sur le temps de vidange des camions ?

### Etat de saturation : deux scénarios

- Soit l'usine est saturée, c'est-à-dire qu'elle produit à sa capacité maximale et dans ce cas, s'il y a un gain de temps avec l'arrêt de l'incorporation des coccidiostatiques, cela permettra une production plus importante, donc une hausse du chiffre d'affaires et du résultat.
- Soit l'usine n'est pas à saturation et ce gain de temps devient une économie car l'usine fonctionne moins d'heures par semaine, ce qui allège les charges.

## ■ Les risques

Les risques induits par l'utilisation de coccidiostatiques sont de plusieurs ordres : techniques, réglementaires et commerciaux. Les risques sont liés à la spécialisation de l'usine ; ils sont plus importants si des aliments pour animaux exportateurs de produits (œufs, laits) sont fabriqués dans la même usine.

### Techniques

Ce type de risques est la conséquence en élevage de la présence ou de l'absence de coccidiostatiques dans un aliment. Le cas le moins grave est une inappétence de l'aliment ou un manque de coccidiostatiques qui engendre une reprise et une livraison supplémentaire aux frais de l'usine. Ceci entraîne aussi la plupart du temps une contre-performance du lot qui a perdu du Gain Moyen Quotidien pendant quelques jours. Dans le pire scénario, on peut craindre une mort des animaux si un aliment avec coccidiostatiques est donné à des pintades ou des chevaux.

analyses de résidus de coccidiostatiques, pourraient se retourner contre les usines d'aliments en cas de dépassement des Limites Maximales de Résidus.

### Commerciaux

Quel serait l'impact commercial d'une contamination croisée ? Quels seraient les impacts sur les échanges internationaux ?

### Réglementaires

Ce risque est essentiellement dû aux contrôles possibles par l'administration. Par ailleurs, les abattoirs d'espèces non-cibles ou sensibles, qui doivent depuis le règlement CE n°124/2009 du 10 février 2009 faire des

### Les coûts mesurables des risques

- Quel est l'impact sur le coût de la police d'assurance supplémentaire dans le cas où il y a une utilisation de coccidiostats pour se prémunir contre une éventuelle intoxication ?
- Quel est le temps consacré par les responsables qualité pour mettre en œuvre toutes les mesures de contaminations croisées, les tests, les mises à jour d'incompatibilités de lots, etc.?

## ■ Les scénarios du changement

En cas d'arrêt de la supplémentation en coccidiostatiques, quel serait le scénario du changement : progressif ou tout ou rien ?

### Scénario progressif

L'arrêt de l'utilisation des molécules se fera sur une période plus ou moins courte, de deux à six mois. Les lots qui n'auront pas été vaccinés seront alimentés avec de l'aliment contenant des coccidiostatiques jusqu'à l'aliment « retrait ». Pendant la période de transition, l'usine devra gérer les deux aliments, deux cellules seront nécessaires au lieu d'une pour chaque gamme (sauf l'aliment retrait).

### Scénario « tout ou rien »

La supplémentation en coccidiostatiques est arrêtée du jour au lendemain et remplacée par la vaccination des poussins. Les animaux nés avant l'arrêt donc non vaccinés et non supplémentés en anti-coccidiens devront alors faire l'objet d'une surveillance étroite (réaction rapide en cas de symptômes d'une coccidiose).

### 3. Présentation de l'outil de calcul des coûts

Un outil de simulation et de calcul a été développé avec Excel pour calculer les différents coûts liés aux coccidiostatiques (Figure 2). Il permet de décrire une situation de départ, une situation d'arrivée (arrêt des coccidiostatiques pour les aliments *Gallus gallus*) et deux situations intermédiaires (« Interm 1 » et « Interm 2 »).

#### ■ Information en entrée

L'information est organisée en 5 blocs. Les informations à saisir (cases grises) sont les suivantes :

- Les paramètres, qui permettent de personnaliser les calculs en fonction des caractéristiques de l'usine et des filières de production,
- Les tonnages effectués par l'usine étudiée (tonnage total volailles, total volailles avec coccidiostatiques, *Gallus gallus* et *Gallus gallus* avec coccidiostatiques),
- Les amortissements des éventuels investissements supplémentaires nécessaires à l'évolution,
- Le coût du stockage de prémix,
- L'éventuel coût de sécurisation de la ration dû à l'arrêt des coccidiostatiques,
- Le surcoût du coccidiostatique dans le coût du prémix,
- L'estimation de l'impact sur la planification,
- La quantité de produit de rinçage par an,
- Le nombre de rinçages par jour,
- Les autres coûts de rinçage,
- Les surcoûts de livraison de l'aliment,
- Le volume annuel des purges camion,
- Les coûts de procédures qualité et de formation du personnel.

#### ■ Information en sortie

En sortie, l'outil de calcul donne :

- Pour chaque poste la différence de coûts entre la situation initiale et la situation finale ;
- Les coûts totaux pour l'usine liés à l'incorporation des coccidiostats pour les quatre situations (départ, intermédiaires 1 et 2 et Arrivée) ;
- Les coûts par tonne d'aliments et par poulet avec leur ventilation suivant les différents postes.

### Conclusion - Discussion

Cette méthode permet une première approche des coûts de fabrication des aliments supplémentés en coccidiostatiques. L'outil a été développé de façon à être souple et pouvoir être adapté aux différentes configurations rencontrées sur le terrain.

Il ne permet cependant pas de prendre en compte tous les risques. Il est en particulier difficile de quantifier le coût des risques ; le coût d'une perte de marché suite à une contamination est difficilement quantifiable dans un scénario prévisionnel.

Enfin, cette évaluation économique doit être intégrée dans une évaluation plus globale incluant tous les coûts pour la filière, et en particulier les coûts de l'impact des coccidioses en élevage.

Figure 2 : L'outil de calcul des coûts

**EVALUATION DES COUTS D'UTILISATION DES COCCIDIOSTATIQUES**

Le: 22/03/2010 Usine:

ITEMS		Départ	Interm 1	Interm 2	Arrivée	Différence
		D	I1	I2	A	D-A
C O N T R A T E S	Caractéristiques de l'usine et objet des coccidiostat					
	Tonnage total Volailles/an		0	0	0	0 T
	Tonnage total Volailles avec coccidiostat/an		0	0	0	0 T
	Tonnage Gallus gallus/an		0	0	0	0 T
	Tonnage G. gallus avec coccidiostat/an	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	1/2 tonnage G. gallus avec coccidiostat	0	0	0	0	0 €
	Tonnage Gallus gallus sans coccidiostat/an					0 €
	Amortissement investissements supplémentaires					0 €
	Stockage prémix					0 €
	Coût					0 €
F A C T O R S	Formulation					0 €
	Sécurisation ration 0.00 €/T ; 0 T - 0 T;		0 €	0 €	0 €	0 €
	Surcoût prémix avec coccidiostat/an 0.00 €/T 0 T		0 €	0 €	0 €	0 €
P R E M I S E S	Planification					0 €
	Coût des contraintes dans le suivi des lots					0 €
Total contraintes liées aux prémix avec coccidiostatiques		0 €	0 €	0 €	0 €	0 € #DIV/0!
R I N C A G E	Produit de rinçage					0
	Quantité de produit de rinçage en Tonnes/an		0	0	0	0
	Coût de fabrication produit de rinçage/an 0 Tx 0.00 €/T		0 €	0 €	0 €	0 €
	Différence prix aliment/produit de rinçage 0 Tx 0 €/T - 0 €/T		0 €	0 €	0 €	0 €
	Coût réel du produit de rinçage/an		0 €	0 €	0 €	0 €
	Main d'œuvre et temps usine					0
	Nombre de rinçage par jour		0.0	0.0	0.0	0.0 rinçage/
	Rinçage en heures/Jour toutes presses confondues		0.0	0.0	0.0	0.0 heure(s)
	Coût total de la perte de temps au niveau de la presse 0 T h x 0.00 €/T x 500 J x 0		0 €	0 €	0 €	0 €
	Autres coûts de rinçage					0 €
Coût du rinçage		0 €	0 €	0 €	0 €	0 € #DIV/0!
T R A N S P O R T	Transport					0 €
	Coût transport livraison annuel des aux coccidiostat					0 €
	Destruction purges camions					0 T
	Volume Purge camion en Tonnes/an 0 T x 0 €/T		0 €	0 €	0 €	0 €
Coût de destruction des purges camions/an		0 €	0 €	0 €	0 €	0 € #DIV/0!
Coût du transport		0 €	0 €	0 €	0 €	0 €
A U T R E S	Autres coûts					0 €
	Saturation marge sur production supplémentaire 0 h x 0 €/T x 0.0% 500 J		0 €	0 €	0 €	0 €
	Autres (coût destruction produit de rinçage)					0 €
	Autres procédures qualité et formation personnel					0 €
Autres coûts		0 €	0 €	0 €	0 €	0 € #DIV/0!
COUT TOTAL des coccidiostat pour poulets et dindes		0 €	0 €	0 €	0 €	0 €

Coût total des coccidiostat pour poulets

Paramètres	Coûts
Coût sécurisation ration en €/Tonne	/T
Surcoût moyen prémix avec coccidiostatiques	/T
Coût de fabrication d'aliment en €/Tonne (coût usine sans Mat.P)	/T
Coût d'une tonne de produit de rinçage en matières premières	/T
Coût moyen d'une tonne d'aliment vicielles en matières premières	/T
Temps d'un rinçage de presse en heures	h
Coût de destruction des purges camions en €/Tonne	/T
Coût d'une granulation/tonne	/T
Rendement d'une presse en Tonnes/h	T/h
Consommation d'aliment par poulet	kg

Soit: #DIV/0! /T  
Soit: #DIV/0! /poulet



## Références bibliographiques

- Williams RB, Carlyle WW, Bond DR, Brown IA. The efficacy and economic benefits of Paracox, a live attenuated anticoccidial vaccine, in commercial trials with standard broiler chickens in the United Kingdom. *Int. J. Parasitol* 1999 Fév;29(2):341-355.
- Williams RB. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *Int. J. Parasitol* 1999 août; 29(8): 1209-1229.
- SNIA, COOP de FRANCE. Guide de bonnes pratiques aliment composé [Internet]. 2008; Available from: [http://www.nutritionanimale.org/bonnes\\_pratiques.asp](http://www.nutritionanimale.org/bonnes_pratiques.asp)
- OMS, FAO. Codex Alimentarius: Production animale - Première édition [Internet]. 2008; Available from: <http://www.fao.org/docrep/010/a1388f/a1388f00.htm>

## Intérêt de l'utilisation d'eubiotiques dans l'aliment pour optimiser la microflore digestive du poulet de chair

### INTERVENANT

**D'ès sciences Gilbert WEBER**  
DSM, Bâle, Suisse

**Gilbert M. Weber<sup>(1)</sup> et Aurélia A. Séon<sup>(2)</sup>**  
<sup>(1)</sup>DSM Nutritional Products, R&D  
Nutrition et Santé Animale, Bâle (Suisse)  
<sup>(2)</sup>DSM Nutritional Products France,  
Centre de Recherche en Nutrition  
Animale, Village-Neuf (France)

*Les eubiotiques représentent des nouveaux additifs alimentaires, fondés sur les probiotiques, les prébiotiques, les acides organiques ou les huiles essentielles et développés à la suite de l'interdiction des promoteurs de croissance antimicrobiens en Europe. Cette conférence a pour but de présenter des résultats expérimentaux récents et de discuter le mode d'action des différents produits eubiotiques y inclus CRINA® Poultry Plus, qui a fait preuve de sa capacité à améliorer les performances des poussins dans diverses conditions expérimentales.*

## Introduction

*La production avicole moderne a été systématiquement intensifiée afin d'améliorer sa productivité. L'une des possibilités de réduction des coûts est d'élever la volaille sur litière profonde et d'optimiser la densité d'occupation. Ce système d'élevage présente toutefois un risque de propagation assez rapide de maladies infectieuses au sein de l'élevage, qu'elles soient d'origine virale, bactérienne ou parasitaire. Par le passé, ces maladies étaient largement endiguées grâce à la supplémentation prophylactique des animaux d'élevage avec des antibiotiques promoteurs de croissance. Même en l'absence de maladies cliniques, ces substances exercent un effet bénéfique sur les performances de l'élevage avicole, grâce à leur effet régulateur positif sur la microflore intestinale. Cet effet consiste en une réduction des micro-organismes pathogènes tels que *Clostridium perfringens*, *Salmonella* ou *E. coli* et en une stimulation des micro-organismes bénéfiques tels ceux du groupe des lactobacilles. Depuis 2006 et l'interdiction en Europe des antibiotiques comme additifs alimentaires, la fréquence des problèmes intestinaux, tels que la diarrhée et l'entérite nécrosante chez les poulets, a régulièrement augmenté.*

*Afin de proposer à l'industrie avicole des alternatives non thérapeutiques d'optimisation de ses activités, plusieurs concepts, fondés sur les probiotiques, les prébiotiques, les acides organiques et les huiles essentielles, ont été formulés (Wenk, 2002). Les produits de ce groupe ont été qualifiés d'eubiotiques parce qu'ils doivent faire passer la microflore du tractus gastro-intestinal d'un état de dysbiose à un état d'eubiose, et que l'on considère qu'ils fonctionnent différemment des antibiotiques classiques. Le présent article entend décrire les différents concepts eubiotiques et présenter une synthèse des derniers résultats issus de notre propre recherche ainsi que d'autres travaux réalisés sur des composés sélectionnés et des combinaisons de ces composés.*

## 1. Probiotiques et Prébiotiques

Les probiotiques sont des additifs alimentaires constitués de micro-organismes vivants dont on pense qu'ils ont un effet bénéfique à la fois sur la santé et sur le bien-être de l'organisme hôte. Dans plusieurs cas, la souche d'un produit probiotique a été isolée à partir du tube intestinal d'un animal en bonne santé. Mais les micro-organismes sélectionnés doivent remplir des critères supplémentaires : ils doivent pouvoir adhérer à l'épithélium intestinal, être résistants au faible pH de l'estomac ou à la présence d'acides biliaires dans l'intestin, et être compétitifs face à d'autres micro-organismes du tractus gastro-intestinal. Il leur faut par ailleurs rester viables dans des conditions de conservation normales, et être adaptés d'un point de vue technologique aux processus industriels tels que la soumission des aliments à une température et une humidité élevées. Les bactéries lactiques et les bifidobactéries constituent actuellement les types de micro-organismes les plus communément utilisés comme probiotiques. Mais des streptocoques, des bacilles, des entérocoques et certaines levures (*Aspergillus*, *Candida*, *Saccharomyces*) se sont également révélés bénéfiques (Patterson & Burkholder, 2003).

La performance maximale des poussins requiert un équilibre entre les bactéries bénéfiques et les pathogènes dans le tractus gastro-intestinal. En cas de stress, la flore bénéfique, en particulier les lactobacilles, a tendance à diminuer en nombre et à être submergée par les micro-organismes pathogènes. Cette situation est susceptible de provoquer une diarrhée clinique ou infraclinique, et donc un ralentissement de la croissance

accompagné d'une baisse de l'efficacité alimentaire. Le mode d'action des probiotiques comprend divers mécanismes : préservation d'une microflore intestinale normale par exclusion et antagonisme compétitif, modification du métabolisme par augmentation de l'activité digestive, diminution de l'activité enzymatique des bactéries et de la production ammoniacale, amélioration des rations et de la digestion et stimulation du système immunitaire (Kabir, 2009).

Bien qu'il existe dans la littérature scientifique de nombreux rapports sur les résultats positifs obtenus sur la volaille avec des probiotiques, les réponses demeurent variables. Dans un article récent (Mountzouris et al., 2007), l'efficacité d'une nouvelle espèce de probiotique multibactérien contenant des lactobacilles, des bifidobactéries, des entérocoques et des *Pediococcus* a été évaluée par comparaison avec un traitement antibiotique (avilamycine). Dans l'ensemble, les deux traitements probiotiques ont eu un effet stimulant sur la croissance qui ne différait pas de celui du groupe de contrôle antibiotique. L'indice de consommation se situait, pour le probiotique, entre le groupe de contrôle sans supplément et le traitement antibiotique. Une certaine régulation de la microflore intestinale par le probiotique a été observée, les bifidobactéries, les lactobacilles et les cocci Gram-positif s'avérant nettement plus nombreux que dans les groupes de contrôle.

Les prébiotiques ont été définis comme des ingrédients alimentaires non digestibles exerçant une influence bénéfique sur l'hôte par la stimulation sélective de la crois-

sance et/ou de l'activité d'un nombre limité de bactéries dans l'intestin (Gibson & Roberfroid, 1995). De la même manière que les probiotiques, les prébiotiques doivent remplir certaines conditions : ne pas être hydrolysés ni absorbés par les enzymes ou les tissus de la volaille ; enrichir de manière sélective une ou un nombre limité de bactéries bénéfiques ; modifier positivement le microbiote intestinal ; et enfin modifier positivement les facteurs luminaux ou systémiques du système immunitaire de l'hôte (Simmering & Blaut, 2001). Les principaux prébiotiques sont les fructo-oligosaccharides (FOS, oligofructose, inuline), mais une autre variété d'oligosaccharides a également été considérée comme bénéfique. Les mannan-oligosaccharides (MOS) ont aussi été utilisés pour réguler la microflore intestinale, mais ils ne sont pas souvent considérés comme des prébiotiques parce qu'ils n'enrichissent pas de manière sélective des populations bactériennes bénéfiques. On estime qu'ils fixent et éliminent les agents pathogènes du tube intestinal et qu'ils stimulent simultanément le système immunitaire (Spring *et al.*, 2000).

Une régulation de l'immunité a également été observée lors de l'administration d'une combinaison de MOS et de FOS à des poussins (Janardhana *et al.*, 2009). L'ajout de ce mélange de produits à l'alimentation entraînait une diminution significative de la proportion de lymphocytes B et de la sensibilité des lymphocytes aux mitogènes dans les amygdales cæcales. En outre, le traitement à base de FOS améliorait nettement les taux d'anticorps

IgM et IgG dans le plasma sanguin. Lors d'un essai de croissance toutefois, ni les MOS ni les FOS n'ont amélioré les performances des poussins, bien que les deux prébiotiques aient régulé le microbiote intestinal (Geier *et al.*, 2009). Une autre étude impliquant divers oligosaccharides à effet prébiotique (inuline, oligofructose, MOS, FOS à chaîne courte et transgalacto-oligosaccharides) a montré que ces produits avaient un effet néfaste sur les poussins (Biggs *et al.*, 2007). Aucun de ces prébiotiques n'améliorait la croissance des poussins, et l'administration de fortes doses d'inuline et de FOS avait un effet négatif sur l'énergie métabolisable et la plupart des oligosaccharides réduisaient la digestibilité des acides aminés. Peu d'effets ont été constatés sur les populations microbiennes dans l'intestin ; les populations cæcales de *C. perfringens* n'ont été réduites que dans une seule expérience impliquant des FOS et des MOS.

Les combinaisons de prébiotiques et de probiotiques sont connues sous le nom de symbiotiques. Un mélange d'un prébiotique à base de galacto-oligosaccharide (GOS) et d'un probiotique à base de *Bifidobacterium lactis* n'a pas produit d'effet bénéfique sur le poids corporel ou sur l'indice de consommation chez les poussins (Jung *et al.*, 2008). Les GOS, en revanche, ont stimulé de manière sélective la microflore fécale et ont augmenté en particulier le nombre de bifidobactéries.

## 2. Acides organiques

La première utilisation d'acides organiques (acides propionique, butyrique, sorbique, acétique, succinique, benzoïque, lactique, formique, citrique et fumarique) dans la production d'animaux monogastriques avait pour but la préservation des aliments contre l'altération microbienne. Mais l'importante activité antimicrobienne des acides organiques a conduit à remarquer que ces composés étaient particulièrement utiles à l'amélioration des performances grâce à leur régulation de la microflore intestinale. Nous avons mené des expériences comparatives *in vitro* sur l'activité antibactérienne de plusieurs acides organiques par rapport à 3 sérotypes de *Salmonella enterica* porcine, dont on sait qu'ils peuvent nuire à l'industrie mondiale de la production animale (tableau 1). Les sérotypes testés étaient les suivants : *Salmonella enterica subsp enterica* de sérotype Typhimurium, Derby et Enteritidis. Nous avons constaté que, à l'exception de l'acide lactique, la concentration de tous les acides organiques inhibant 99 % de la croissance bactérienne de chacune des salmonelles testées s'élevait à 25 mmol/l. Dans cette analyse *in vitro*, les CMI<sub>99</sub> n'ont pas permis de différencier les acides mais ont indiqué des activités antimicrobiennes différentes. A cette concentration, les acides benzoïques, citriques et fumariques ont montré une activité bactériolytique contre les trois souches

de Salmonelles tandis que les autres acides étaient bactériostatiques. La détermination de la CMI<sub>50</sub> a montré que, de manière générale, les acides sorbique, benzoïque et citrique étaient les composés les plus actifs contre les trois *Salmonella enterica* testées. Les CMI<sub>50</sub> des acides sorbique, succinique, benzoïque, lactique et citrique nécessaires pour le sérovar Enteritidis ont été équivalentes à celles des acides benzoïques, sorbiques et citriques pour le sérovar Derby. Ces mêmes concentrations ont du être doublées pour obtenir les mêmes effets avec les acides succiniques et fumariques sur le développement de *Salmonella* Derby et avec les acides benzoïques et citriques sur celui de *Salmonella* Typhimurium. Celui-ci a été le moins sensible des trois sérotypes testés. L'acide lactique a fait preuve d'une faible activité antimicrobienne contre *Salmonella* Enteritidis et n'était pas actif contre les deux autres sérotypes. Les différents acides testés ont aussi montré un certain effet sur le ralentissement de la croissance de ces bactéries. Dans cette expérience, l'acide benzoïque avait l'effet le plus prononcé, suivi de près par les acides sorbique et citrique.

**Tableau 1 : CMI des différents acides contre la croissance de trois sérovars de *Salmonella enterica* porcines et retards de croissance (GR) provoqués par 11mM des différents acides**

	Salmonella Typhimurium			Salmonella Derby			Salmonella Enteritidis		
	CMI <sub>99</sub> (mM)	CMI <sub>50</sub> (mM)	GR %	CMI <sub>99</sub> (mM)	CMI <sub>50</sub> (mM)	GR %	CMI <sub>99</sub> (mM)	CMI <sub>50</sub> (mM)	GR %
Propionique	25	13<< 25	3	25	13<< 25	4	25	13<< 25	4
Butyrique	25	13<< 25	4	25	13<< 25	4	25	13<< 25	5
Sorbique	>11	3<< 6	15	>11	3<< 6	14	>11	3<< 6	16
Acétique	25	13<< 25	xx	25	13<< 25	xx	25	13<< 25	xx
Succinique	25	13<< 25	4	25	6<< 13	4	25	3<< 6	4
Benzoïque	25	6<< 13	32	25	3<< 6	34	25	3<< 6	32
Lactique	25	13<< 25	1	>25	13<< 25	1	>25	3<< 6	1
Formique	25	13<< 25	2	25	13<< 25	2	25	13<< 25	2
Citrique	25	13<< 25	14	25	3<< 6	14	25	3<< 6	17
Fumarique	25	13<< 25	6	25	6<< 13	8	25	6<< 13	6

Des mélanges de divers acides organiques ont, *in vivo*, entraîné un changement de la microflore intestinale avec des populations plus homogènes et distinctes, ainsi qu'une augmentation de la colonisation de l'iléon des poussins par le lactobacille (Nava et al., 2009). Il a été montré que l'acide citrique produisait chez les poulets des résultats similaires à l'antibiotique promoteur de croissance, l'avilamycine (Chowdhury et al., 2009). Il a été constaté que le butyrate, acide gras à chaîne courte, régula négativement et de manière ciblée l'expression des gènes d'invasion dans les salmonelles. Il pourrait donc être un composé important dans l'amélioration de la sécurité alimentaire des produits avicoles (Van Immerseel et al., 2006).

Récemment, l'acide benzoïque a été identifié comme étant un additif alimentaire efficace pour améliorer les performances de croissance, la digestibilité des nutriments et l'équilibre azoté, ainsi que pour réduire le nombre de bactéries Gram-négatif dans le tractus gastro-intestinal des porcelets (Kluge et al., 2006; Guggenbuhl et al., 2007). L'acide benzoïque a démontré *in vitro* une importante activité antimicrobienne face aux bactéries isolées de l'intestin du porcelet (tableau 2).

**Tableau 2 : CMI de l'acide benzoïque obtenues *in vitro* contre la croissance de bactéries représentatives de la microflore intestinale**

Bacteria	Référence	CMI <sub>99</sub> (mM)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	S26	> 25
<i>Lactobacillus acidophilus 2</i>	S23	> 25
<i>Staphylococcus hyicus</i>	S CIP81.58	25
<i>Escherichia coli</i> O157 : K88a, c : H19	S CIP105185	25
<i>Escherichia coli</i> K88	S CIP 79.49	25
<i>Salmonella</i> Enteritidis	S PF1338	25
<i>Salmonella</i> Typhimurium	S PF3127	25
<i>Clostridium perfringens</i>	S120	13

Ces bactéries sont représentatives des micro-organismes de la flore digestive indigène. La détermination de la CMI *in vitro* a montré que l'acide benzoïque avait l'effet le plus prononcé sur les bactéries potentiellement pathogènes, tandis que les lactobacilles semblaient moins sensibles.

lorsque ce composé était administré aux poulets (Jozefiak et al., 2007). Les bactéries coliformes dans le cæcum étaient en revanche en baisse, ce qui indique que l'importante activité antimicrobienne de l'acide benzoïque pourrait également exercer un effet bénéfique sur la santé intestinale de la volaille.

Chez la volaille, l'acide benzoïque aurait plutôt des effets négatifs. On a en effet observé un net effet cytostatique et une détérioration de l'indice de consommation

### 3. Huiles essentielles

Ces dernières années, les huiles essentielles (HE) ont focalisé l'attention en raison de leur proximité avec la nature. Les HE sont des composés volatils extraits des plantes par distillation et entraînement par la vapeur d'eau, qui présentent des propriétés bénéfiques variées, telles que l'aromatisation, la stimulation de la sécrétion d'enzymes et des activités antioxydantes ou antimicrobiennes. Il a été démontré qu'en matière de digestibilité des nutriments, le thymol, l'aldéhyde cinnamique ou une préparation commerciale à base de composés d'huile essentielle (CRINA® Poultry) augmentaient l'activité de l'amylase dans les digesta intestinaux de poules (Lee et al., 2003). Avec un extrait de plante constitué de capsaïcine, d'aldéhyde cinnamique et de carvacrol, (Jamroz et al., 2005) ont observé une augmentation de l'activité des lipases dans le pancréas et dans la paroi intestinale qui améliorait l'indice de consommation chez les poulets. Il ressort que la pipérine alimentaire, composé piquant du poivre noir, stimule favorablement les enzymes digestives du pancréas. Elle améliore ainsi la capacité digestive et réduit de manière significative le temps de transit gastro-intestinal des aliments (Srinivasan, 2007). De même, des extraits de plantes d'un mélange d'origan, de cannelle, de poivre ou de sauge, de thym et de romarin ont amélioré la digestibilité apparente des nutriments dans l'iléon et dans l'ensemble du tube digestif chez les poulets (Hernandez et al., 2004).

Les effets antimicrobiens des HE sont particulièrement intéressants pour la production avicole commerciale. Des activités à large spectre ont été observées *in vitro* pour les HE à base d'origanum et de monolaurine (Preuss et al., 2005), pour les extraits de romarin (Santoyo et al., 2005) et pour les HE à base de chrysanthémum (Shunying et al., 2005). De plus, il a été constaté que les huiles d'origan et de thym étaient actives contre les souches d'*E. coli* et de *Salmonella* dérivées de la volaille et des porcs (Peñalver et al., 2005). Nos propres expériences menées *in vitro* sur des composés purs d'huile essentielle ont confirmé ces résultats (tableau 3). L'évaluation du thymol, du carvacrol et de l'eugénol a montré d'intéressantes activités contre la croissance des bactéries de *Salmonella enterica subsp enterica* de sérotype Enteritidis, de *Campylobacter jejuni* et de plusieurs souches de *Clostridium perfringens* isolées dans le tube intestinal du poulet.

**Tableau 3 : CMI de l'acide benzoïque obtenues *in vitro* contre la croissance de bactéries pathogènes pour le poulet**

Bacteria	Référence	CMI <sub>99</sub> (ppm ~ mg/L)		
		Thymol	Eugenol	Carvacrol
<i>Clostridium perfringens</i>	P CIP106633	250	250	250
<i>Salmonella</i> Enteritidis	P PF66	250	250	250
<i>Campylobacter jejuni</i>	P127	250	250	250

Il a été démontré *in vivo* que des mélanges spécifiques de composés d'huile essentielle contrôlaient la colonisation et la prolifération de *Clostridium perfringens* dans l'intestin des poulets, ce qui est supposé fournir une protection contre l'entérite nécrosante (Mitsch et al., 2004). Un mélange de capsaïcine, d'aldéhyde cinnamique et de carvacrol a entraîné une réduction d'*E. coli*, de *Clostridium perfringens* et de champignons intestinaux, tout en produisant une augmentation du lactobacille bénéfique *Lactobacillus spp.* chez les poulets (Jamroz et al., 2005).

Les effets cumulatifs des HE sur la digestibilité des nutriments et sur la régulation de la microflore intestinale entraînent au final une amélioration des performances

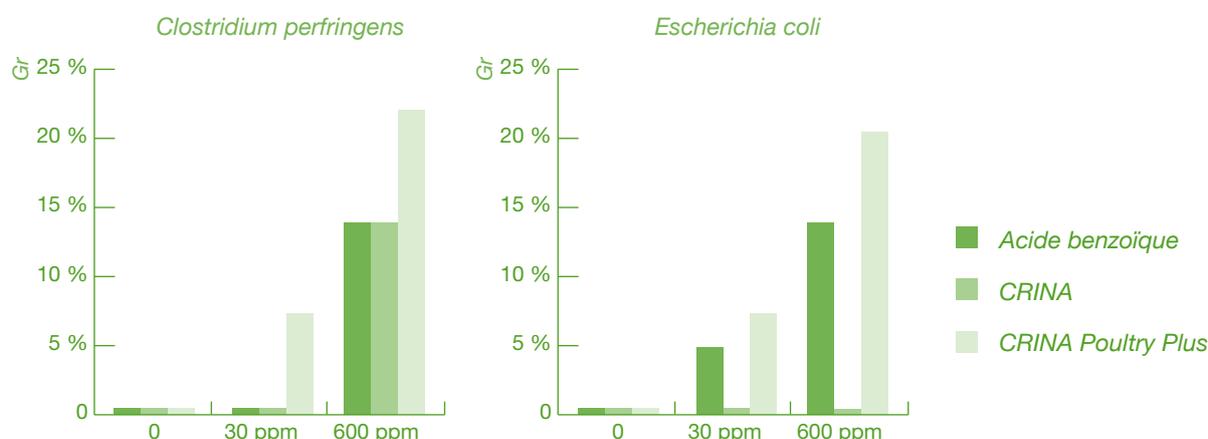
des poulets. Il ressort que les HE à base de différentes herbes de Turquie améliorent le gain de poids, l'indice de consommation et le rendement en carcasse des poulets (Alçiçek et al., 2003). Un extrait de plantes, constitué de 3 HE, a amélioré l'indice de consommation et le rendement en filet chez les poulets (Jamroz et al., 2005). Lors des tests sur l'inclusion de diverses herbes culinaires ou de leurs huiles essentielles dans l'alimentation de poussins femelles, c'est l'inclusion d'huile alimentaire de thym ou d'achillée sous forme d'herbe qui présentait les effets les plus positifs sur les performances des poussins, tandis que l'origan sous forme d'herbe et l'huile d'achillée constituaient les suppléments les moins enrichissants (Cross et al., 2007).

## 4. Combinaisons d'eubiotiques

Comme il a été suggéré que les acides organiques présentent un effet supplémentaire par rapport aux HE, lié au fonctionnement plus efficace des enzymes digestives en conditions acides, une combinaison de composés d'huile essentielle sélectionnés (thymol, eugénol, pipérine) et d'acide benzoïque a été développée et est désormais disponible sur le marché sous la marque CRINA® Poultry Plus.

Une évaluation *in vitro* du ralentissement de la croissance des bactéries a suggéré un effet complémentaire de l'acide benzoïque et du mélange d'huiles essentielles contenus dans CRINA® Poultry Plus sur la croissance d'*E. coli* et de *Clostridium perfringens* (figure 1). Des observations semblables ont été faites en testant le même mélange de composés sur l'inhibition *in vitro* de *Salmonella enterica subsp enterica* de sérotype Enteritidis.

**Figure 1 : Retard de croissance (GR) de *Clostridium perfringens* et *Escherichia coli* testés *in vitro* en présence soit d'acide benzoïque ou de CRINA® (huiles essentielles) seuls ou avec le mélange CRINA® Poultry PLUS.**



Une série d'essais de croissance portant sur des poussins a été menée dans différents pays (Pologne, Belgique, France et Pays-Bas) afin d'évaluer l'effet de ce nouvel additif alimentaire à base d'eubiotiques sur les performances de croissance des poussins. Bien que les essais individuels aient produit des réponses variables, une méta-analyse de tous les résultats indique que 300 ppm de CRINA® Poultry Plus (CPP) permettent d'améliorer divers paramètres de performance par rapport à un témoin ne recevant pas de suppléments (tableaux 4a et 4b). CPP a amélioré de manière significative le poids corporel au jour 21 (+ 2,0 % ; P = 0,002) et au jour 42 (+ 1,5 % ; P = 0,015). De plus, les volailles rece-

vant le traitement CPP présentaient un gain moyen quotidien supérieur dans la phase de démarrage (jours 1 à 21 ; + 2,1 % ; P = 0,002) et sur l'ensemble de la période d'essai (jours 1 à 42 ; + 1,5 % ; P = 0,015). En comparaison avec les témoins, l'indice général de consommation était plus favorable avec la supplémentation alimentaire à base de CPP (- 0,6 % ; P = 0,041). La mortalité était normale et n'a pas été influencée par le traitement alimentaire. Ces résultats confirment que CRINA® Poultry Plus à une dose de 300 ppm améliore les performances des poussins, amenés à un poids d'abattage dans des conditions semi-commerciales.

**Tableau 4a : Méta-analyse des effets du traitement (groupe de contrôle versus 300 ppm de CPP) sur le poids corporel et la mortalité des poulets**

Traitement	Poids corporel (g)			Mortalité (%)
	État initial	Jour 21 <sup>1</sup>	Jour 42 <sup>1</sup>	Jours 1-42
Témoin	37,74	878 <sup>B</sup>	2 651 <sup>B</sup>	3,1
CPP300	37,48	895 <sup>A</sup>	2 690 <sup>A</sup>	3,3

<sup>1</sup>Les exposants différents dans une même colonne signalent des différences significatives (P ≤ 0,05).

**Tableau 4b : Méta-analyse des effets du traitement (groupe de contrôle versus 300 ppm de CPP) sur le gain moyen quotidien (GMQ) et l'indice de consommation (IC) des poulets**

	Démarrage (jours 1-21)		Croissance (jours 22-42)		Essai total (jours 1-42)	
	GMQ <sup>1</sup>	IC	GMQ <sup>1</sup>	IC	GMQ <sup>1</sup>	IC <sup>1</sup>
Témoin	38,7 <sup>B</sup>	1,35	84,7	1,85	61,9 <sup>B</sup>	1,70 <sup>B</sup>
CPP300	39,5 <sup>A</sup>	1,35	86,1	1,84	62,8 <sup>A</sup>	1,69 <sup>A</sup>

<sup>1</sup>Les exposants différents dans une même colonne signalent des différences significatives ( $P \leq 0,05$ ).

## 5. Synthèse et Conclusions

À la suite de l'interdiction des promoteurs de croissance antimicrobiens en Europe, plusieurs nouveaux additifs alimentaires ont été développés dans le but de prévenir l'apparition de troubles digestifs cliniques ou infracliniques, de manière à maintenir une production avicole rentable. Les différents concepts sont fondés sur les probiotiques, les prébiotiques, les acides organiques ou les huiles essentielles, que l'on peut réunir sous le terme d'eubiotiques. Tous les produits eubiotiques sont capables de réguler de manière bénéfique la microflore intestinale et donc de transformer une situation de dysbiose dans le tractus gastro-intestinal en un état d'eubiose. Des rapports issus d'essais cliniques et sur

le terrain montrent que ces concepts fonctionnent, mais ne sont peut-être pas assez puissants pour prévenir à eux-seuls de manière fiable les troubles digestifs et les dégradations de performance chez la volaille dans les conditions actuelles d'élevage intensif. Des combinaisons d'eubiotiques pourraient constituer une solution d'avenir. CRINA<sup>®</sup> Poultry Plus, un mélange de composés d'huile essentielle et d'acide benzoïque, a démontré d'importantes activités antimicrobiennes *in vitro* et fait preuve de sa capacité à améliorer de manière systématique les performances des poussins dans diverses conditions expérimentales.

## Références bibliographiques

- 1 Alçiçek, A., M. Bozkurt and M. Çabuk (2003): The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, 33: 89-94.
- 2 Biggs, P., C.M. Parsons and G.C. Fahey (2007): The effects of several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poult. Sci.*, 86: 2327-2336.
- 3 Chowdhury, R., K.M. Islam, M.J. Khan, M.R. Karim, M.N. Haque, M. Khatun and G.M. Pesti (2009): Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. *Poult. Sci.*, 88: 1616-1622
- 4 Cross, D.E., R.M. McDevitt, K. Hillman and T. Acamovic (2007): The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *Brit. Poult. Sci.*, 48: 496-506.
- 5 Geier, M.S., V.A. Torok, G.E. Allison, K. Ophel-Keller and R.J. Hughes (2009): Indigestible carbohydrates alter the intestinal microbiota but do not influence the performance of broiler chickens *J Appl. Microbiol.*, 106:1540-1548.
- 6 Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid (1995): Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 125: 1401-1412.
- 7 Guggenbuhl, P. A. Séon, A. Piñón Quintana and C. Simões Nunes (2007): Effects of dietary supplementation with benzoic acid (VevoVital<sup>®</sup>) on the zootechnical performance, the gastrointestinal microflora and the ileal digestibility of the young pig. *Livestock Science*, 108: 218-221.
- 8 Hernandez, F., J. Madrid, V. Garcia, J. Orengo and M.D. Megias (2004): Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.*, 83: 169-174.
- 9 Jamroz, D., A. Wiliczkiwicz, T. Wertelecki, J. Orda and J. Skorupinska (2005): Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *Br. Poult. Sci.*, 46: 485-493.
- 10 Janardhana, V., M.M. Broadway, M.P. Bruce, J.W. Lowenthal, M.S. Geier, R.J. Hughes and A.G. Bean (2009): Prebiotics modulate immune responses in the gut-associated lymphoid tissue of chickens. *J. Nutr.*, 139:1404-1409.

*Suite des références...*

## Références bibliographiques (la suite)

- 11 Jung, S.J., R. Houde, B. Baurhoo, X. Zhao and B. H. Lee (2008): Effects of galacto-oligosaccharides and a bifidobacteria lactis-based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens. *Poult. Sci.*, 87:1694-1699.
- 12 Kabir, S.M.L. (2009): The role of probiotics in the poultry industry. *Int. J. Mol. Sci.*, 10: 3531-3546.
- 13 Jozefiak, D., S. Kaczmarek, M. Bochenek and A. Rutkowski (2007): A note on effect of benzoic acid supplementation on the performance and microbiota population of broiler chickens. *J. Anim. Feed Sci.*, 16: 252-256.
- 14 Kluge, H., J. Broz and K. Eder (2006): Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal microflora and parameters of microbial metabolism in piglets. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.*, 90: 316-324.
- 15 Lee, K.W., H. Everts, H.J. Kappert, M. Frehner, R. Losa and A.C. Beynen (2003): Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *Br. Poult. Sci.*, 44: 450-457.
- 16 Mitsch, P., K. Zitterl-Eglseer, B. Kohler, C. Gabler, R. Losa and I. Zimpf (2004): The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. *Poult. Sci.*, 83: 669-675.
- 17 Mountzouris, K.C., P. Tsirtsikos, E. Kalamara, S. Nitsch, G. Schatzmayr and K. Fegeros (2007): Evaluation of the Efficacy of a Probiotic Containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* Strains in Promoting Broiler Performance and Modulating Cecal Microflora Composition and Metabolic Activities. *Poult. Sci.*, 86: 309-317.
- 18 Nava, G.M., M.S. Attene-Ramos, H.R. Gaskins and J.D. Richards (2009): Molecular analysis of microbial community structure in the chicken ileum following organic acid supplementation. *Vet. Microbiol.*, 137: 345-353.
- 19 Patterson, J.A. and K.M. Burkholder (2003): Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poult. Sci.*, 82: 627-631.
- 20 Peñalver, P., B. Huerta, C. Borge, R. Astorga, R. Romero and A. Perea (2005): Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *APMIS*, 113: 1-6.
- 21 Preuss, H.G., B. Echard, M. Enig, I. Brook and T.B. Elliott (2005): Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. *Mol. Cell Biochem.*, 272: 29-34.
- 22 Santoyo, S., S. Cavero, L. Jaime, E. Ibanez, F.J. Senorans and G. Reglero (2005): Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J. Food Prot.*, 68: 790-795.
- 23 Shunying, Z., Y. Yang, Y. Huaidong, Y. Yue and Z. Guolin (2005): Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J. Ethnopharmacol.*, 96: 151-158.
- 24 Simmering, R. and M. Blaut (2001): Pro- and prebiotics – the tasty guardian angels? *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55: 19-28.
- 25 Spring, P., C. Wenk, K.A. Dawson and K.E. Newman (2000): The effect of dietary mannanoligosaccharides on ceca of *Salmonella*-challenged broiler chicks. *Poult. Sci.*, 79: 205-211.
- 26 Srinivasan, K. (2007): Black pepper and its pungent principle-piperine: A review of diverse physiological effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 47: 735-748.
- 27 Van Immerseel, F., J.B. Russell, M.D. Flythe, I. Gantois, L. Timbermont, F. Pasmans, F. Haesebrouck and R. Ducatelle (2006): The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: A mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Path.*, 35: 182-188.
- 28 Wenk, C. (2002): Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15(Special Issue): 14-21.

## **Etude terrain**

**de l'activité d'une flore construite bactérienne  
chez le poulet de chair**

### **INTERVENANT**

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Dominique FOURNIER**  
FILAVIE, Saint-Herblain, France

*L'objet de l'essai, réalisé sur un grand nombre de sujets (plus de 500 000 poulets de chair), est d'étudier les conséquences sur les lésions des pattes de poulets élevés sur une litière rendue plus confortable par la distribution dans l'eau de boisson d'une flore construite bactérienne composée de Bacillus et Lactobacillus.*

## Introduction

*Une flore construite bactérienne avait été préparée dans le but initial de mettre au point une méthode alternative de compostage de fumier d'élevage. Une fois cette méthode biologique de compostage mise au point, il avait été décidé de s'intéresser au traitement des litières en présence d'animaux afin d'améliorer les conditions d'ambiance et les caractéristiques des fumiers. Les premiers essais ont débuté en pulvérisant la flore construite à la surface des litières mais les résultats obtenus ont été décevants. Confrontés à la difficulté d'incorporer par pulvérisation ce complexe bactérien dans la litière de façon homogène, régulière et sans perte de charge au bon moment, il a alors été décidé d'utiliser l'animal comme vecteur, en distribuant le produit par l'eau de boisson. Les bactéries colonisent le tube digestif des animaux, s'y multiplient et se retrouvent dans les fientes qui viennent alors ensemençer de façon homogène la litière et apportent la matière organique nécessaire au processus de compostage. Les résultats ont été rapidement probants avec une litière plus souple et plus sèche qui colle moins aux pattes des animaux.*

*L'objet du présent essai est d'étudier les conséquences sur les lésions des pattes de poulets élevés sur une litière rendue plus confortable par la distribution dans l'eau de boisson d'une flore construite bactérienne.*

## 1. Matériel et méthode

### ■ Lieu de l'essai

L'essai est réalisé dans la région Ouest de la France.

### ■ Animaux de l'essai

L'essai est réalisé sur plus d'un million de poulets de chair élevés sur une trentaine de sites d'élevage et répartis en 2 groupes :

- groupe Essai (E) constitué d'environ 500 000 poulets répartis sur une trentaine de bâtiments dans lesquels est distribuée la flore construite bactérienne étudiée,

- groupe Témoin (T) constitué d'environ 500 000 sujets répartis dans une trentaine de bâtiments, servant de témoin.

Chaque site d'élevage comprend au moins 2 bâtiments, avec au moins un bâtiment Essai et un bâtiment Témoin. Sur l'ensemble des bâtiments d'un site les poulets ont la même origine et sont mis en place le même jour.

### ■ Produit étudié

Il s'agit d'une flore bactérienne construite associant 12 souches de bactéries naturelles dans une suspension concentrée et congelée. Cette flore est préparée à partir de souches identifiées et pures, présentes à l'état naturel dans le milieu extérieur et cultivées sur milieux synthétiques sécurisés. L'originalité de cette flore construite réside :

- d'une part, dans l'association **dans un même flacon de *Bacillus* et de *Lactobacillus***,
- d'autre part, dans son procédé de fabrication qui permet une composition définie et contrôlée de souches bactériennes précisément identifiées. Il ne s'agit donc pas d'une flore de composition indéfinie mais **d'une flore construite**.

L'ensemble des souches de bactéries de la flore étudiée ont été déposées à la CNCM (Collection Nationales de Cultures de Microorganismes à l'Institut Pasteur).

La flore construite étudiée est distribuée dans l'eau de boisson et ses propriétés peuvent se décliner selon deux approches :

- effet sur l'animal : les bactéries présentes dans la flore construite ont un effet physiologique bénéfique sur la flore intestinale par colonisation du tube digestif, effet de compétition à l'égard de microorganismes indésirables et renforcement de la flore aérobie en particulier lors de transit digestif accéléré. Par conséquent, elles participent à la stimulation des défenses naturelles et améliorent la santé des animaux, ce qui se traduit par une meilleure assimilation des nutriments, une meilleure viabilité et une meilleure productivité.
- effet sur l'environnement immédiat de l'animal : les bactéries de la flore construite facilitent la dégradation biologique des fientes après compostage selon une voie de fermentation aérobie. C'est bien cet effet qui est recherché dans le présent essai, **le but étant d'obtenir une litière plus confortable pour les animaux**.

## ■ Programme et méthode de distribution

Le programme de distribution dans les bâtiments Essai est décrit dans le tableau suivant (Tableau 1), sachant qu'un tube de flore construite est dosé pour 1200 m<sup>2</sup> de litière ou 20 000 sujets présents.

**Tableau 1 : Programme de distribution d'une flore construite dans les bâtiments Essai**

Age	Fréquence	Nombres de tubes	
		Jusqu'à 20 000 sujets	Entre 20 000 et 40 000 sujets
A l'âge de 1 jour (dès la mise en place)	Matin	1	2
	Midi	1	2
	Soir	1	2
Au 2 <sup>e</sup> jour	Matin	1	2
	Midi	1	2
	Soir	1	2
2 <sup>e</sup> semaine		1	2
4 <sup>e</sup> semaine		1	2

La flore construite étudiée se présente en cryotubes conservés au congélateur entre -17°C et -20°C jusqu'au moment de son emploi. Le tube est alors sorti du congélateur et mis à température ambiante 1/4 d'heure avant son utilisation. La suspension bactérienne est préparée en reconstituant le contenu d'un tube dans une quantité déterminée d'eau potable dépourvue de toute trace d'antiseptique et de désinfectant, et dans laquelle ont été dilués au préalable 2,5 g de poudre de lait écrémé / litre d'eau (stabilisateur et neutralisant du chlore) ou 16 mg de thiosulfate de sodium / litre d'eau (neutralisant du chlore).

Il n'est pas nécessaire d'assoiffer les poulets au préalable

dans la mesure où les bactéries de la flore construite sont stables à température ambiante pendant 20 heures dans de l'eau additionnée de poudre de lait écrémé ou de thio-sulfate de sodium.

Les précautions particulières à prendre sont :

- d'éviter toute décantation de la suspension bactérienne dans le bac en maintenant une agitation continue (pompe de retour - bac avec brasseur) pendant la distribution,
- de distribuer la flore construite au-delà de 15 jours après un traitement avec un antibiotique,
- de distribuer la flore construite au-delà de 24 heures après un traitement avec un acidifiant.

## ■ Observations et enregistrements

Les observations envisagées sont :

- Température et humidité de la litière : mesurées lors de chaque distribution de la flore construite, en 4 endroits différents du bâtiment,
- Taux d'ammoniac : mesuré à chaque distribution de la flore construite à 20 cm au dessus de la litière à l'aide d'une pompe Dräger,
- Qualité de la litière : évaluation par le technicien et l'éleveur le jour de la distribution de la flore construite, selon un score de 0 à 2 : 0 = mauvaise qualité ; 1 = qualité correcte ; 2 = bonne qualité,
- Consommation de la paille : évaluation par le technicien et l'éleveur le jour de la distribution de la flore construite, selon un score de 0 à 2 : 0 = consommation en aug-

mentation ; 1 = sans changement de consommation ; 2 = consommation en diminution,

- Lésions de pododermatite : évaluation par le technicien et l'éleveur le jour de la distribution de la flore construite sur un échantillon de 20 sujets, selon un score de 0 à 2 : 0 = pas de lésion visible ou présence sur moins de 5 sujets sur 20 ; 1 = présence de lésions sur 5 à 10 sujets sur 20 ; 2 = présence de lésions sur plus de 10 sujets sur 20,
- Données techniques et économiques habituelles de production : poids vif, indice de consommation, poids de carcasse, taux de mortalité (consigner aussi les causes observées de mortalité), la consommation de gaz par bâtiment.

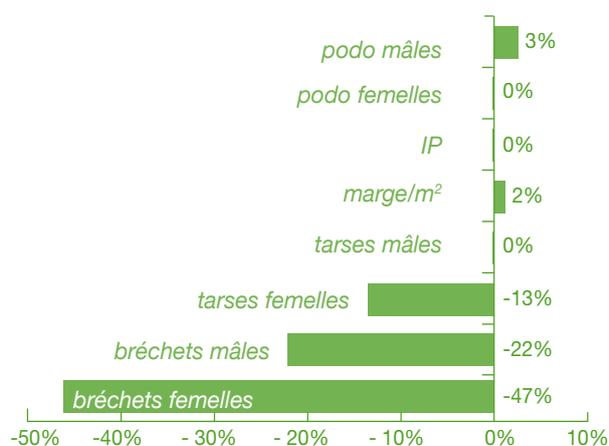
## 2. Résultats

- L'essai s'est déroulé de juillet 2009 à octobre 2009.
- Le nombre total de poulets inclus dans l'essai est de 1 133 646 répartis entre 500 258 poulets pour le groupe E et 633 388 poulets pour le groupe T ; 22 bâtiments pour groupe E et 28 bâtiments pour groupe T.
- La moyenne de poulets mis en place est de 22 739 par bâtiment E et de 22 621 par bâtiment T.
- Le programme de distribution préconisant la distribution de 2 tubes de flore construite dès que l'effectif dans un

bâtiment dépassait 20 000 sujets n'a pas été respecté. A chaque application un seul tube de flore construite a été utilisé.

- Des désordres digestifs ont été observés dans certains lots entre 25 et 30 jours d'âge, tant chez le groupe E que chez le groupe T.
- Le diagramme 1 synthétise et présente les différences (en pourcentage) observées entre les poulets du groupe E et les poulets du groupe T.

**Diagramme 1 : différence relative entre les poulets du groupe E et les poulets du groupe T**



- Les lésions sur les bréchets des poulets du groupe Essai sont observées beaucoup moins fréquemment que sur les bréchets des poulets du groupe Témoin.
- De même pour les lésions observées sur les tarses des femelles. En revanche, pas de différence entre les poulets mâles des deux groupes Essai et Témoin.
- 3 % en plus d'atteintes de pododermatite chez les poulets du groupe E alors qu'il n'y a pas de différence entre les poulets femelles des deux groupes E et T.
- Une marge brute de 2 % en plus chez le groupe E.

### 3. Discussion

L'observation bien moindre des lésions au niveau des tarses et des bréchets chez les poulets du groupe E ayant reçu la flore construite bactérienne, va dans le sens d'une litière plus confortable, c'est-à-dire plus souple, moins croûteuse, moins humide en surface, ce qui diminue les atteintes de la peau par macération. Cette structure de litière peut être expliquée par une dégradation allant dans un sens de fermentation aérobie induite par la multiplication des bactéries issues de la flore construite.

L'activité de la flore construite est observée malgré le sous-dosage qui a été appliqué. Le dosage initial préconisé était de 2 tubes de flore construite à distribuer à chaque application dès que l'effectif par bâtiment était supérieur à 20 000 sujets, alors qu'un seul tube a été en fait utilisé à chaque application.

L'application de la flore construite n'a pas permis d'observer une diminution de la fréquence des désordres digestifs souvent observés entre 25 et 35 jours d'âge. A noter que le programme de distribution préconisé n'était d'emblée pas adapté à cette situation puisqu'il est classiquement recommandé de distribuer une dose hebdomadaire de la flore construite et de renforcer la distribution dans la semaine qui précède les désordres

digestifs habituellement observés dans l'élevage, à raison de 1 tube de flore construite matin et soir pendant 4 jours (jusqu'à 20 000 sujets présents).

Les diverses observations initialement prévues n'ont pas été réalisées : température et humidité de la litière, taux d'ammoniac, qualité de la litière, consommation de paille, évaluation de la gravité des lésions de pododermatite. Il aurait été particulièrement intéressant de pouvoir juger de la gravité des atteintes de pododermatite avec leur évolution dans le temps. Il existe en effet des processus de cicatrisation au cours du temps qui rendent ininterprétables les simples taux de lésions de pododermatite exprimés en pourcentage. De surcroît les différences constatées de 0 % et 3 % respectivement chez les femelles et les mâles entre les groupes E et T sont très difficilement interprétables.

La marge brute est améliorée de 2 % chez les poulets du groupe E, ce qui peut paraître a priori assez peu. Il aurait été intéressant de pouvoir connaître le gain économique obtenu à l'abattoir grâce à un moindre déclassement chez les poulets du groupe E en raison de lésions beaucoup moins fréquentes au niveau des bréchets et des tarses.

### Conclusion

Dans les conditions de l'essai, il a pu être démontré une activité de la flore construite étudiée avec obtention d'une litière plus confortable qui entraîne moins de lésions des tarses et des bréchets.

Il serait souhaitable et intéressant de pouvoir répéter l'essai en tenant compte des possibilités suivantes d'amélioration :

- S'agissant de la méthode d'utilisation de la flore construite, respecter un dosage adéquat en fonction de l'effectif traité et un programme de distribution plus adapté à la chronologie des troubles digestifs observés habituellement dans l'élevage.
- S'agissant des critères d'observation, bien mesurer au cours du temps le taux d'humidité et la température de la litière, évaluer la qualité physique de la litière, évaluer la gravité des lésions de pododermatite, évaluer le gain économique de production au niveau de l'atelier de transformation.

## Pathogénicité d'*Eimeria praecox* chez le poulet de chair et virulences comparées de souches terrain d'*Eimeria praecox* et *acervulina*

### INTERVENANTE

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Martina DARDI,**  
Laboratorios Hipra SA, Avda, La Selva,  
Espagne

*Le pouvoir pathogène d'*Eimeria praecox* chez le poulet est méconnu, contrairement à celui d'*Eimeria acervulina* qui est classiquement décrit. Le but de cette étude était de comparer la virulence de plusieurs souches d'*E. praecox* et d'*E. acervulina*, à travers l'impact de l'inoculation à des poulets de 14 jours de doses croissantes d'ookystes sporulés sur les lésions macroscopiques, microscopiques, le gain de poids vif quotidien, et la conversion alimentaire. A l'intérieur d'une même espèce coccidienne, les effets ont été variables d'une souche à une autre. *E. praecox* a provoqué des lésions macroscopiques non spécifiques, avec un contenu duodéal liquide et visqueux, des lésions microscopiques d'érosion et d'atrophie des villosités. La souche H d'*E. praecox* a produit des réductions du gain de poids vif quotidien et des dégradations du ratio de conversion alimentaire statistiquement significatifs, et plus graves que ceux produits par la souche de référence d'*E. acervulina*. Cette étude confirme qu'*E. praecox* et *E. acervulina* sont pathogènes chez le poulet, et que leur virulence varie d'une souche à une autre.*

## Introduction

*Le genre Eimeria comprend au moins 1 160 espèces qui parasitent les animaux vertébrés (Levine, 1988). Celles trouvées chez les animaux de ferme peuvent causer de graves pertes économiques un peu partout dans le monde, les volailles étant peut-être les plus touchées. Chez les poulets, Eimeria acervulina, E. brunetti, E. maxima, E. mitis, E. necatrix, E. praecox et E. tenella causent des maladies différentes et reconnaissables qui résultent de pouvoirs pathogènes propres à chaque espèce.*

Bien que souvent utilisés comme synonymes, les termes « pathogénicité » (capacité à provoquer une maladie) et « virulence » (degré de pathogénicité) devraient être distingués (Williams, 2006). Alors que la pathogénicité est une caractéristique constante de chaque espèce en particulier, la virulence varie d'une souche à l'autre à l'intérieur d'une même espèce. Ainsi, la virulence intrinsèque de toute souche (par opposition à la pathogénicité d'une espèce) peut être fortement influencée par des facteurs exogènes. Dans la présente étude, la taille de l'inoculum des parasites ainsi que la race, l'âge et l'alimentation des poulets ont été standardisés pour comparer valablement les virulences des souches coccidiennes.

Il existe une controverse sur la pathogénicité et la virulence d' *E. praecox* par rapport à d'autres espèces d'*Eimeria* chez le poulet, et notamment la nécessité de son inclusion dans les vaccins vivants (Williams, 2002). Pourtant, peu nombreuses sont les études publiées sur le pouvoir pathogène de souches « terrains » d'*E. praecox* et sur ses effets cliniques : Long (1967a, 1968), Oikawa & Kawaguchi (1976), Gore & Long (1982), Salisch (1990), Jorgensen et coll. (1997), Williams (1998, 2001), Williams & Catchpole (2000), Jenkins et coll. (2008), Réperant et coll. (2009). Cette courte liste contraste avec les centaines de documents sur *E. acervulina*. C'est pourquoi la présente étude a été menée pour confirmer les effets pathogènes spécifiques d' *E. praecox* et étudier les différences de virulence des souches de terrain récentes en provenance d'Europe et des USA. Des comparaisons ont été faites avec des souches de laboratoire référence d' *E. praecox* et *E. acervulina*. *E. acervulina* été choisie pour la comparaison avec *E. praecox* en raison de son site de développement identique dans l'intestin et parce qu'il est généralement accepté comme étant susceptible de causer des maladies graves, alors que *E. praecox* est souvent considérée comme relativement inoffensive.

La pathogénicité chez le poulet de *E. praecox* a été comparée avec celle de *E. acervulina* en utilisant comme critères discriminants les lésions intestinales, l'intégrité de la muqueuses, le Gain de Poids Vif (GPV) et les ratios de consommation (RCA).

Les souches d'*E. praecox* et *E. acervulina* utilisées sont :

1 *E. praecox* (H) : la souche Houghton précédemment décrit par Shirley et al. (1984).

2 *E. praecox* (T) : la souche Tynyngogl isolée par la Veterinary Laboratories Agency (VLA) pour cette étude à partir d'un lot de poulets de chair élevé à Tynyngogl, au Pays de Galles, en Janvier 2007.

3 *E. praecox* (R) : la souche Raleigh isolée par Hipra Laboratorios à partir d'un lot de poulets de chair élevés près de Raleigh en Caroline du Nord, aux USA, en Février 2005 et aimablement fournie par M. Jenkins (USDA, Beltsville, USA).

4 *E. acervulina* (H) : la souche Houghton (Long, 1967b).

Les travaux expérimentaux *in vivo* ont été effectués au VLA : des groupes de 10 poulets ont été infectés (à l'exception des témoins non infectés, qui ont reçu de l'eau distillée stérile) avec *E. praecox* ( $1 \times 10^6$  ou  $0,5 \times 10^6$  oocystes), à 14 jours d'âge (jour 0) ou avec *E. acervulina* ( $1 \times 10^6$ ,  $0,5 \times 10^6$  ou  $0,25 \times 10^6$  oocystes) au jour 2. Les groupes infectés par *E. praecox* ont été individuellement pesés aux jours 0 à 7 et 14. Les groupes infectés par *E. acervulina* étaient également pesés aux jours 2 à 9 et 16. L'aliment total consommé pendant les jours 0 à 7 puis 7 à 14 par chaque cage de 10 oiseaux a été pesé et les Ratios de Conversion d'Alimentation (RCA) ont été calculés en divisant le poids de l'aliment consommé par le Gain de Poids Vif (GPV) des oiseaux de la même cage durant la même période. Les signes cliniques et l'éventuelle mortalité pour chaque cage d'oiseaux ont été enregistrés quotidiennement de 0 à 14 jours après infection. Les intestins de l'ensemble des 10 oiseaux de chacune de deux cages supplémentaires par traitement ont été examinés pour les lésions et l'intégrité des muqueuses. Pour une cage, les oiseaux ont été tués 4,5 jours après l'infection (par *E. praecox*) ou 5 jours après l'infection (pour *E. acervulina*). Ceux de la seconde cage ont été tués à J14 pour les deux espèces coccidiennes.

*E. acervulina* a causé les lésions classiquement décrites. *E. praecox* a causé des lésions microscopiques visibles dans les tissus frais seulement avec un microscope à dissection. A l'ouverture de l'intestin, le contenu était liquide avec différents degrés de viscosité. Les deux espèces ont causé une érosion et une atrophie des villosités intestinales. Aucune mortalité n'est survenue, même chez les oiseaux recevant jusqu'à 1 million d'oocystes sporulés.

Les deux espèces ont causé des réductions statistiquement significatives des gains de poids vif dès les plus faibles inocula testés (500 000 oocystes sporulés par oiseau de *E. praecox* et 250 000 de *E. acervulina*).

Le tableau 1 présente les gains de poids vif moyens des oiseaux au cours des différentes périodes allant jusqu'à 14 jours après l'infection.

Pendant la phase aiguë (jours 0 à 7), les gains de poids vif moyens de tous les oiseaux infectés ont été inférieurs à ceux des témoins non infectés pour chaque espèce, mais seule les souches T d'*E. praecox* et H d'*E. acervulina* ont produit une réduction statistiquement significative des gains de poids vif moyens.

Pendant la période 7 à 14 jours, pas de différence statistiquement significative entre les traitements au sein de chaque espèce.

Sur l'ensemble de l'essai (jours 0 à 14), seul *E. praecox* (T) et *E. acervulina* (H) ont causé une réduction statistiquement significative des Gains de Poids Vif moyens : à dose infectante équivalente, la souche T d'*E. praecox* cause d'ailleurs des réductions des gains de poids vif moyens plus graves que ceux causés par la souche H d'*E. acervulina*.

Le tableau 2 présente les Ratios de Conversion Alimentaire moyens (RCAm) des oiseaux infectés et non infectés au cours de différentes périodes allant jusqu'à 14 jours après infection.

Les deux doses les plus élevées pour *E. acervulina* produisent des RCam environ 2,4 à 2,6 fois supérieurs à ceux des témoins, en partie du fait des baisses de gains de poids précédemment décrites.

Seule la dose la plus élevée pour *E. praecox* (T) a produit un RCam significativement supérieur à celui des oiseaux témoins, même si toutes les autres doses d'inoculum d'*E. praecox* entraînent des RCam numériquement plus élevés que ceux des témoins.

Il n'y avait pas de différences statistiquement significatives entre les RCam des différents traitements au cours de la période de récupération (7 à 14 jours) ou globale.

En conclusion, en utilisant le Gain de Poids Vif et le Ratio de Conversion Alimentaire comme critères, la virulence des souches de terrain récentes de *E. praecox* du Pays de Galles (T) et les USA (R) a été comparée avec celle des souches de laboratoire anglais de *E. praecox* (H) et *E. acervulina* (H). Les résultats obtenus montrent que *E. praecox* (T) a été plus virulente que *E. acervulina* (H), qui est elle-même plus virulente que *E. praecox* (R) et *E. praecox* (H).

La présente étude a démontré que les souches de laboratoire et de terrain de *E. praecox* montrent un éventail beaucoup plus large de virulence qu'on ne le pensait dans le passé. Par ailleurs, la virulence de certaines souches d'*E. praecox* peut non seulement égaler mais aussi dépasser celle d'*E. acervulina*.

**Tableau 1 : Gains de Poids Vifs moyens (GPV<sub>m</sub>), pour les deux périodes de temps et la période complète : Espèces et souches coccidiennes étudiées séparément.**

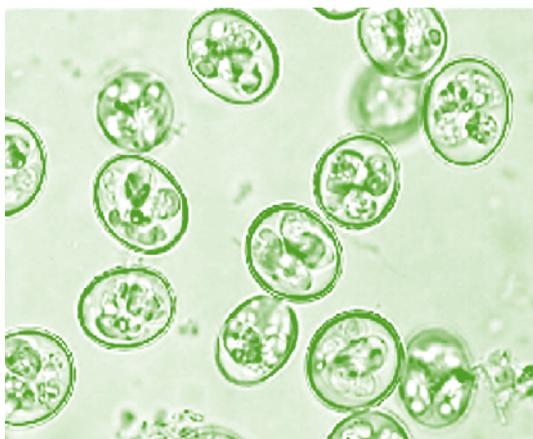
Souche coccidienne et dose Inoculum en nombre d'oocystes par poulet	Gain de Poids Vifs moyen en valeur (g) et en pourcentage du GPV <sub>m</sub> du témoin		
	Jours 0 à 7	Jours 7 à 14	Jours 0 à 14
Water (témoin <i>E. praecox</i> )	72.1 (100 %) <sup>C</sup>	91.7 (100 %) <sup>A</sup>	163.9 (100 %) <sup>C</sup>
<i>E. praecox</i> (H) 1 x 10 <sup>6</sup>	66.3 (92 %) <sup>C</sup>	89.0 (97 %) <sup>A</sup>	155.3 (95 %) <sup>C</sup>
<i>E. praecox</i> (H) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	65.5 (91 %) <sup>C</sup>	86.7 (94 %) <sup>A</sup>	151.9 (93 %) <sup>C</sup>
<i>E. praecox</i> (T) 1 x 10 <sup>6</sup>	15.9 (22 %) <sup>A</sup>	82.4 (90 %) <sup>A</sup>	98.3 (60 %) <sup>A</sup>
<i>E. praecox</i> (T) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	32.5 (45 %) <sup>B</sup>	85.1 (93 %) <sup>A</sup>	117.6 (72 %) <sup>AB</sup>
<i>E. praecox</i> (R) 1 x 10 <sup>6</sup>	59.1 (82 %) <sup>C</sup>	87.2 (95 %) <sup>A</sup>	146.2 (89 %) <sup>C</sup>
<i>E. praecox</i> (R) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	57.5 (80 %) <sup>C</sup>	86.1 (94 %) <sup>A</sup>	143.6 (88 %) <sup>BC</sup>
Water (témoin <i>E. acervulina</i> )	78.6 (100 %) <sup>B</sup>	93.6 (100 %) <sup>A</sup>	172.3 (100 %) <sup>B</sup>
<i>E. acervulina</i> (H) 1 x 10 <sup>6</sup>	33.6 (43 %) <sup>A</sup>	88.5 (95 %) <sup>A</sup>	122.1 (71 %) <sup>A</sup>
<i>E. acervulina</i> (H) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	37.3 (47 %) <sup>A</sup>	87.1 (93 %) <sup>A</sup>	124.4 (72 %) <sup>A</sup>
<i>E. acervulina</i> (H) 0.25 x 10 <sup>6</sup>	49.4 (63 %) <sup>A</sup>	90.5 (97 %) <sup>A</sup>	139.9 (81 %) <sup>A</sup>

Les valeurs qui ont une lettre différente en exposant sont significativement différentes au seuil P < 0.05 par le test HSD de Tukey. Les valeurs de la dernière colonne peuvent être légèrement différentes de la somme des deux précédentes, à cause des arrondis de valeurs.

**Tableau 2 : Ratios de Conversion Alimentaire Moyens (RCAm), pour les deux périodes de temps et la période complète : Espèces et souches coccidiennes étudiées séparément.**

Souche coccidienne et dose Inoculum en nombre d'oocystes par poulet	RCAm		
	Jours 0 à 7	Jours 7 à 14	Jours 0 à 14
Water (témoin <i>E. praecox</i> )	2,396 <sup>A</sup>	2,899 <sup>A</sup>	2,678 <sup>A</sup>
<i>E. praecox</i> (H) 1 x 10 <sup>6</sup>	2,789 <sup>A</sup>	3,871 <sup>A</sup>	3,386 <sup>A</sup>
<i>E. praecox</i> (H) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	3,713 <sup>AB</sup>	3,199 <sup>A</sup>	3,424 <sup>A</sup>
<i>E. praecox</i> (T) 1 x 10 <sup>6</sup>	9,570 <sup>B</sup>	3,886 <sup>A</sup>	4,763 <sup>A</sup>
<i>E. praecox</i> (T) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	4,996 <sup>AB</sup>	4,364 <sup>A</sup>	4,538 <sup>A</sup>
<i>E. praecox</i> (R) 1 x 10 <sup>6</sup>	3,715 <sup>AB</sup>	3,747 <sup>A</sup>	3,734 <sup>A</sup>
<i>E. praecox</i> (R) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	4,922 <sup>AB</sup>	4,258 <sup>A</sup>	4,532 <sup>A</sup>
Water (témoin <i>E. acervulina</i> )	2,545 <sup>A</sup>	2,838 <sup>A</sup>	2,706 <sup>A</sup>
<i>E. acervulina</i> (H) 1 x 10 <sup>6</sup>	6,164 <sup>A</sup>	3,893 <sup>A</sup>	4,503 <sup>A</sup>
<i>E. acervulina</i> (H) 0.5 x 10 <sup>6</sup>	6,658 <sup>A</sup>	3,907 <sup>A</sup>	4,715 <sup>A</sup>
<i>E. acervulina</i> (H) 0.25 x 10 <sup>6</sup>	3,588 <sup>A</sup>	3,105 <sup>A</sup>	3,272 <sup>A</sup>

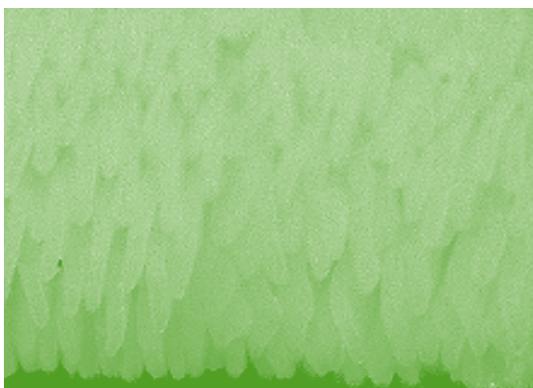
Les valeurs qui ont une lettre différente en exposant sont significativement différentes au seuil P < 0.05 par le test HSD de Tukey.



Oocystes d'*Eimeria praecox* : De grosse taille (24 µm par 21 µm) et ovoïdes, ils peuvent facilement être confondus avec ceux d'*E. maxima*.



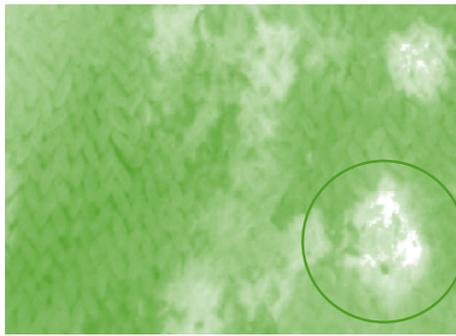
Lésions de score 2 d'*E. praecox* : Le contenu du duodénum est liquide et visqueux et évoque une entérite banale.



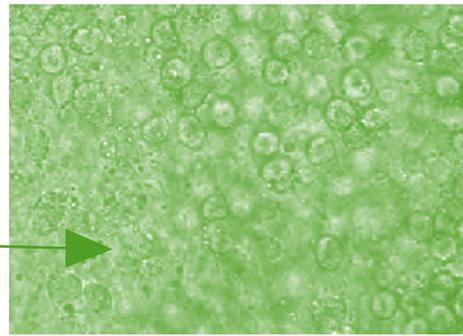
Muqueuse du duodénum normale, vue au microscope à dissection : Les microvillosités sont bien développées.



Muqueuse du duodénum infectée par *E. praecox*, vue au microscope à dissection : Les microvillosités sont atrophiées et érodées.



Muqueuse du duodénum infectée par *E. acervulina*, vue au microscope électronique à balayage : Muqueuse saine dans la partie gauche de l'image, avec des images de villosités en bon état.  
« Point blanc » au milieu et à droite de l'image.



Microscopie électronique à transmission : Les « points blancs » correspondent à des zones où le bord libre des villosités est désintégré et tapissé d'oocystes d'*acervulina* et de mucus.

## Références bibliographiques

- 1 Gore, T.C. & Long, P.L. (1982). The biology and pathogenicity of a recent field isolate of *Eimeria praecox* Johnson, 1930. *Journal of Protozoology*, 29, 82-85.
- 2 Jenkins, M., Allen, P., Wilkins, G., Klopp, S. & Miska, K. (2008). *Eimeria praecox* infection ameliorates effects of *Eimeria maxima* infection in chickens. *Veterinary Parasitology*, 155, 10-14.
- 3 Jorgensen, W.K., Stewart, N.P., Jeston, P.J., Molloy, J.B., Blight, G.W. & Dalgliesh, R.J. (1997). Isolation and pathogenicity of Australian strains of *Eimeria praecox* and *Eimeria mitis*. *Australian Veterinary Journal*, 75, 592-595.
- 4 Levine, N.D. (1988). *The Protozoan Phylum Apicomplexa*. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc.
- 5 Long, P.L. (1967a). Studies on *Eimeria praecox* Johnson, 1930, in the chicken. *Parasitology*, 57, 351-361.
- 6 Long, P.L. (1967b). Studies on *Eimeria mivati* in chickens and a comparison with *Eimeria acervulina*. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 77, 315-325.
- 7 Long, P.L. (1968). The pathogenic effects of *Eimeria praecox* and *E. acervulina* in the chicken. *Parasitology*, 58, 691-700.
- 8 Oikawa, H. & Kawaguchi, H. (1976). Effect of mode of infection on manifestation of symptom and oocyst production in chicken coccidiosis. IV. *Eimeria praecox* and *E. mitis*. *Japanese Journal of Parasitology*, 25, 141-147. [In Japanese]
- 9 Repérant J.M., Dardi M., Pagès M., Duchemin D., Thomas-Hénaff M., (2009). Etude du pouvoir pathogène d'*E. Praecox*, seule ou associée à *E. acervulina*, 8<sup>e</sup> journées de la Recherche Avicole, Saint-Malo, France, 25 et 26 mars 2009.
- 10 Salisch, H. (1990). A study of the life cycle of *Eimeria praecox*, Johnson 1930. *Journal of Veterinary Medicine B*, 37, 363-368.
- 11 Shirley, M.W., McDonald, V., Chapman, H.D. & Millard, B.J. (1984). *Eimeria praecox*: selection and characteristics of precocious lines. *Avian Pathology*, 13, 669-682.
- 12 Williams, R.B. (1998). Epidemiological aspects of the use of live anticoccidial vaccines for chickens. *International Journal for Parasitology*, 28, 1089-1098.
- 13 Williams, R.B. (2001). Quantification of the crowding effect during infections with the seven *Eimeria species* of the domesticated fowl: its importance for experimental designs and the production of oocyst stocks. *International Journal for Parasitology*, 31, 1056-1069.
- 14 Williams, R.B. (2002). Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. *Avian Pathology*, 31, 317-353.
- 15 Williams, R.B. (2006). Relative virulences of a drug-resistant and a drug-sensitive strain of *Eimeria acervulina*, a coccidium of chickens. *Veterinary Parasitology*, 135, 15-23.
- 16 Williams, R.B. & Catchpole, C. (2000). A new protocol for a challenge test to assess the efficacy of live anticoccidial vaccines for chickens. *Vaccine*, 18, 1178-1185.



## **Efficacité de l'immunité active** par la vaccination contre la maladie de Gumboro vis à vis d'épreuves réalisées avec différents types de virus

**INTERVENANT**

*D<sup>r</sup> Vétérinaire Yannick GARDIN  
CEVA, Libourne, France*

Retrouvez l'intégralité du texte sur le site [www.rippa.fr](http://www.rippa.fr)





## **Vaccin vecteur HVT-IBD :** suivi de la qualité de vaccination à l'aide des méthodes PCR et ELISA Illustration par quelques cas cliniques

### **INTERVENANT**

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Paul MORILLON**  
MÉRIAL, Villeurbanne, France

*La maîtrise des bonnes pratiques d'administration des vaccins issus des nouvelles technologies administrés à 1 jour ou In Ovo, s'appuie en général sur des procédures décrites dans le manuel qualité du couvoir. Des outils de diagnostic sérologique (ELISA) et moléculaire (PCR) appliqués à des prélèvements réalisés quelques semaines plus tard sur les mêmes animaux en élevage, permettent, dans le cas décrit, de confirmer la réalité de la prise vaccinale Gumboro.*

*Ces méthodes d'analyse aussi fiables soient-elles doivent cependant être utilisées avec discernement et toujours confrontées aux observations cliniques, afin d'éviter au maximum les erreurs d'appréciation. En revanche, menées conjointement dans une démarche d'autocontrôle, elles sont source d'amélioration de la qualité de la vaccination et donc de la satisfaction client.*

## Introduction

Le vaccin vecteur HVT+IBD (VAXXITEK® HVT+IBD) disponible en production Gallus illustre l'application des dernières avancées de la biologie moléculaire aux filières chair, ponte et reproduction.

Outre les incomparables avantages en termes d'innocuité et d'efficacité, les innovations apportées par ce type de vaccin se retrouvent aussi dans la manière de tracer leur administration puis la prise vaccinale de l'animal.

La PCR quantitative et la sérologie ELISA constituent les deux méthodes complémentaires utilisables sur le terrain ; elles représentent indéniablement des outils fiables applicables en routine, qui doivent être inclus dans les procédures de Contrôle Qualité des Bonnes Pratiques de Vaccination.

## 1. Rappels sur le mode d'action

Le virus vaccinal HVT (Herpès-virus de la dinde) contenu dans VAXXITEK® HVT+IBD se multiplie dans les lymphocytes de l'hôte comme n'importe quel virus de la maladie de Marek et exprime la VP-2 (Protéine virale n°2) du virus de la maladie de Gumboro.

Le vecteur HVT engendre une immunité contre la maladie de Marek, tandis que la VP-2 est le principal composant immunogène protecteur, commun à toutes les souches connues de virus de la maladie de Gumboro. Tout animal recevant ce vaccin se trouve donc protégé à la fois contre les maladies de Marek et de Gumboro.

## 2. Suivi de la prise vaccinale

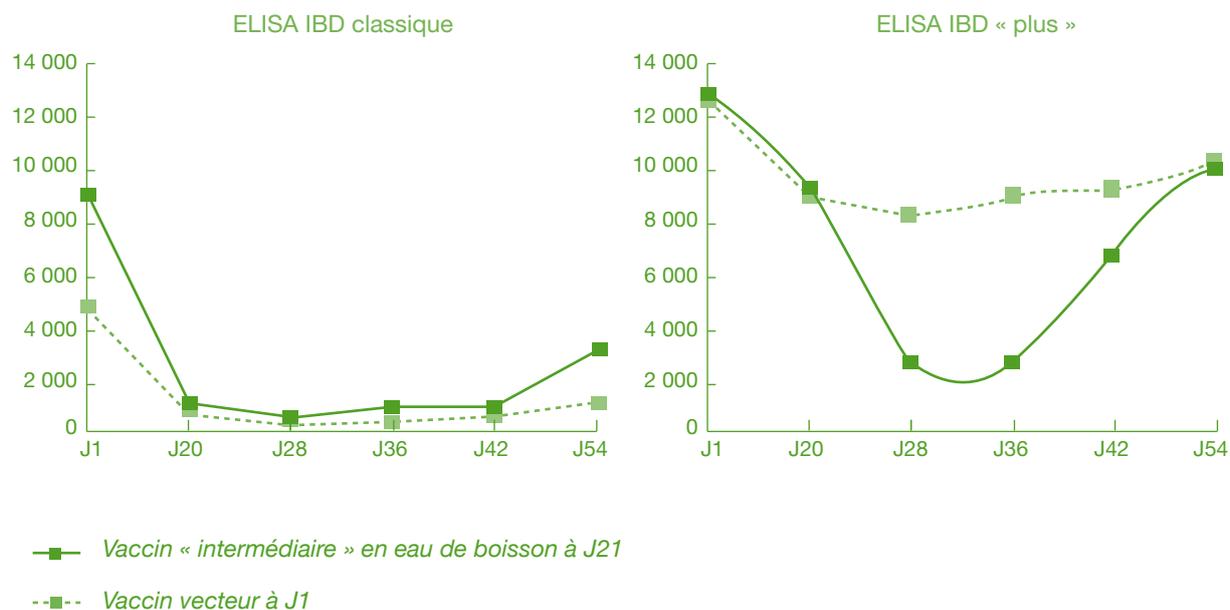
Suite à la vaccination, le mode de multiplication du virus HVT engendre une stimulation antigénique persistante contre la maladie de Gumboro et la maladie de Marek.

L'originalité de ce vaccin permet d'en tracer l'administration par la sérologie et par la PCR.

### ■ La sérologie

Les kits ELISA utilisés en routine pour le suivi des anticorps Gumboro ne détectent que faiblement les anticorps anti-VP-2, qui sont les seuls à être générés par l'administration du vaccin. On a donc recours à

un autre type de kit dont les caractéristiques permettent essentiellement la mise en évidence des anticorps anti-VP-2. L'originalité de ce vaccin permet d'en tracer l'administration par la sérologie et par la PCR.



On constate sur ces courbes que les poulets qui ont reçu le vaccin à J1 présentent des taux d'anticorps anti-VP-2 (ELISA IBD « plus ») significativement plus élevés que les animaux vaccinés en eau de boisson à J21. Cette différence est particulièrement notable entre 4 et 5 semaines d'âge. Il suffit donc de prélever le sérum de 20 sujets en cours de 5<sup>e</sup> semaine d'élevage pour démontrer la réalité de la vaccination.

Le kit PROFLOCK IBD « classique » du laboratoire Synbiotics utilise un antigène IBD cultivé sur tissu cellulaire, alors que le kit PROFLOCK IBD *Plus* (Synbiotics également) utilise un antigène extrait de bourses de Fabricius, ce qui le rend plus sensible. D'autres kits IBD « classiques » sont aussi utilisés sur le terrain pour le suivi de la vaccination VAXXITEK®HVT+IBD : kit BioCheck, kit IDEXX, kit LSI ...

**Tableau 1 : Titres sérologiques ELISA IBD attendus selon le statut immunitaire de l'animal avec les kits PROFLOCK (Synbiotics)**

Statut immunitaire	Titre ELISA IBD <i>Classique</i>	Titre ELISA IBD <i>Plus</i>
Animal vacciné VAXXITEK® HVT+IBD	< 2 000 après 21 jours**	> 4 000*
Animal non/mal vacciné	< 2 000 après 21 jours**	< 3 000 à partir de 21 jours*
Animal vacciné avec un vaccin vivant	2000 – 6500***	Sans objet
Animal infecté Gumboro	> 5000***	

\* LAMICHHANE C, communication personnelle.

\*\* PRANDINI F, BUBLOT M., LE GROS FX., DANCER A., PIZZONI L., LAMICHHANE C. : Assessment of the immune response in broilers and pullets using two ELISA kits after in ovo or day-old vaccination with a vectored HVT + IBD vaccine (VAXXITEK® HVT+IBD). *Zootecnica international* 9, 2008.

\*\* LE GROS F.X., DANCER A., GIACOMINI C., PIZZONI L., BUBLOT M., GRAZIANI M., PRANDINI F. : Field efficacy trial of a novel HVT-IBD vector vaccine for 1-day-old broilers, (*J*) *Vaccine*, 2009 (27) : p 592-596.

\*\*\* Données Laboratoire Synbiotics.

## ■ La PCR

Une PCR quantitative (qPCR vHVT13) est également disponible pour tracer la vaccination. L'amorce utilisée est spécifique de l'insert VP2 sur le génome du vecteur HVT13 ; elle ne peut détecter d'autres

virus HVT qu'ils soient vaccinaux ou sauvages. Cette qPCR vHVT13 est réalisée sur la pulpe des follicules plumeux prélevés sur des animaux également âgés de 4 à 5 semaines.

## 3. Validation lors d'un essai terrain

Un essai sur poulet de type label a été mis en place afin de valider ces observations dans les conditions du terrain.

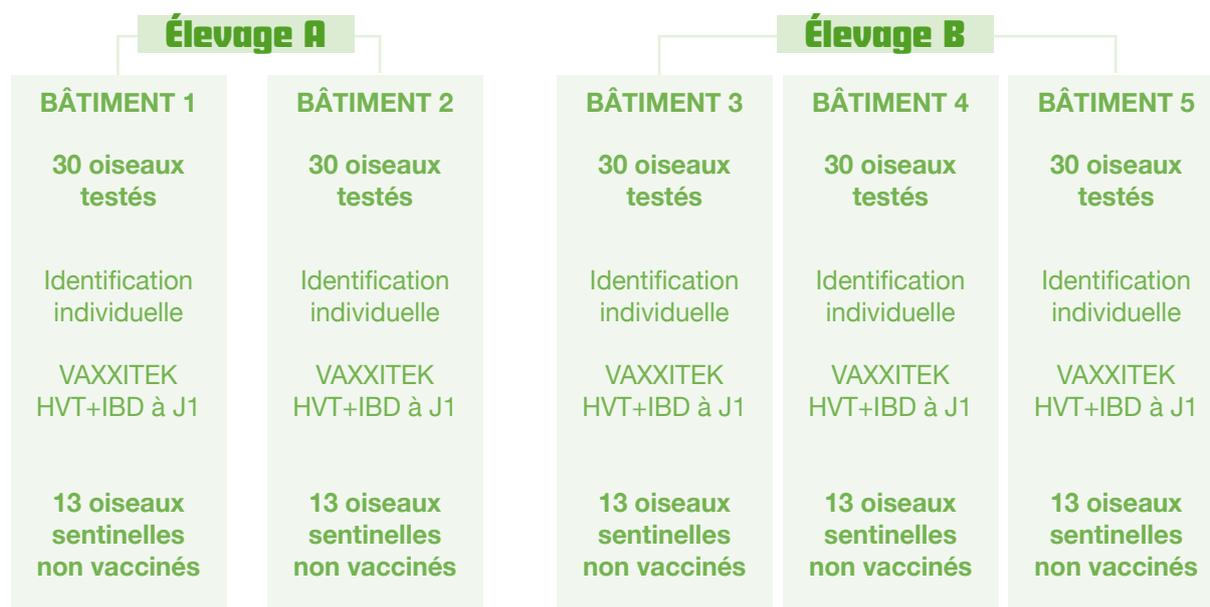
### ■ Schéma et protocole de l'essai

**Figure 1 : Répartition des animaux et organisation de l'essai**



Entre J35 et J81, tous les oiseaux sont identifiés et testés individuellement.

Figure 1 : Répartition des animaux et organisation de l'essai (suite)



Après lecture et interprétation des résultats de sérologie et de PCR issus des prélèvements réalisés en cinétique individuelle à J35, J42, J56 et J84, les enseignements que l'on peut tirer de cet essai sont les suivants :

#### ■ Sérologie IBD+

Tous les animaux correctement vaccinés montrent des titres ELISA « IBD+ » supérieurs à 4000, niveau considéré comme suffisant pour assurer la protection clinique de l'animal.

Les mêmes sérums testés en ELISA « classique » donnent des titres inférieurs à 5000, ce qui signi-

fie que la séroconversion lue avec le kit « IBD+ » n'est due qu'à la seule stimulation antigénique par la protéine VP2 générée par VAXXITEK® HVT+IBD, et non au contact intercurrent avec un virus « sauvage » du terrain.

#### ■ qPCR vHVT13

Les follicules plumeux des animaux dont on a testé les sérums par sérologie (Cf. ci-dessus), ont été soumis à la qPCR vHVT13 afin de vérifier le niveau de corrélation entre les deux méthodes.

Deux constats s'imposent à la confrontation de ces résultats d'analyse. Le premier constat est que si la plupart des poulets positifs en ELISA IBD+ le sont également en qPCR vHVT13, un faible nombre d'entre eux se révèlent négatifs lors d'une, deux, voire trois dates de prélèvement. Le second constat est que trois des cent trente poulets ainsi testés se sont trouvés négatifs en qPCR HVT13

aux quatre dates.

Ceci démontre que dans certaines circonstances et malgré ses réelles qualités de sensibilité et de spécificité, la qPCR montre ses limites en générant ce qu'il est convenu d'appeler des « faux-négatifs » ; ce type de résultat négatif est généralement consécutif à l'impact isolé ou simultané de plusieurs facteurs exogènes inhibant l'hybridation moléculaire. Ces inhibiteurs sont bien connus des spécialistes de la méthode et doivent impérativement être pris en compte lors de la phase d'interprétation des résultats d'analyse.

#### ■ Validation statistique

Une validation statistique de cet essai est en cours ; les conclusions seront disponibles à la date de l'exposé.

## 4. Illustration par deux cas cliniques

A l'occasion de visites d'élevages motivées par des suspicions cliniques de maladie de Gumboro sur des lots de poulets label ou certifiés, des prélèvements ont été réalisés en vue de sérologie ELISA IBD et IBD+, de qPCR vHVT13 et d'histologie.

### ■ Élevage A

Octobre 2009

N°	Statut clinique	IBD BioCheck	IBD +	PCR vHVT13	Statut vaccinal	Histologie
1	Sains	151	1 090	Négatif	Non Vacciné	Pas d'histologie
2		686	11 936	Positif	Vacciné	
3		695	10 887	Positif	Vacciné	
4		709	12 558	Négatif	Faux-négatif	
5	Malades	11 621	3 640	Négatif	Non Vacciné	Bursite aiguë nécrosante sévère typique d'une infection par un virus Gumboro
6		355	3 714	Négatif	Non Vacciné	
7		510	0	Négatif	Non Vacciné	
8		259	1 374	Négatif	Non Vacciné	
9		155	611	Négatif	Non Vacciné	
10		171	0	Négatif	Non Vacciné	
11		186	0	Négatif	Non Vacciné	
12		194	0	Négatif	Non Vacciné	
Moyenne		1 263	4 443	10 Négatifs / 12		
CV		237 %	114 %	83 % Négatifs		

Dans l'élevage A, les animaux cliniquement sains (numéros 1 à 4) n'ont pas fait l'objet d'examen histologique, mais parallèlement les tests ELISA et qPCR valident le fait que ces poulets ont bien été vaccinés. On peut noter que le sujet n°4 présente les caractéristiques d'un individu « faux-négatif » alors que le sujet n°1 présente celles d'un « vrai-négatif ».

Les poulets cliniquement malades (numéros 5 à 12) montrent en revanche des titres ELISA inférieurs au

seuil de protection de 4000, et des tests qPCR uniformément négatifs ; on peut ajouter que le contact qu'ont eu ces animaux avec le virus sauvage génère une interférence susceptible de rendre la lecture des titres IBD+ ininterprétable.

La clinique exprimée par ces animaux est en outre corroborée par l'observation histologique individuelle des bourses de Fabricius, concluant à une « bursite aiguë nécrosante sévère typique d'une infection par un virus Gumboro ».

### ■ Élevage B

Septembre 2009

N°	Statut clinique	IBD BioCheck	IBD +	PCR vHVT13	Statut vaccinal	Histologie
1	Sains	1 850	15 755	Positif	Vacciné	Absence de lésion évocatrice des maladies de Marek ou de Gumboro
2		20	7 311	Positif	Vacciné	
3		1 826	12 738	Positif	Vacciné	
4	Malades	1 807	16 392	Positif	Vacciné	
5		921	14 277	Positif	Vacciné	
6		863	16 334	Positif	Vacciné	
7		903	15 584	Positif	Vacciné	
8		278	12 554	Positif	Vacciné	
Moyenne		1 059	13 868			
CV		63 %	21 %			

Dans l'élevage B, les animaux cliniquement sains (numéros 1 à 3) ainsi que les animaux cliniquement malades (numéros 4 à 8) montrent tous des titres ELISA IBD/IBD+ et des valeurs qPCR validant leur statut de sujet vacciné.

L'examen histologique des bourses de Fabricius se révèle quant à lui négatif, et invalide de fait la suspicion de maladie de Gumboro qui avait motivé la visite et les prélèvements.

## 5. Pour une approche globale du monitoring de la vaccination au couvoir

Avec la mise sur le marché croissante de vaccins pour volailles administrés au couvoir, la demande de méthodes de monitoring des Bonnes Pratiques de Vaccination devient un concept indissociable du devenir technique et économique du vaccin lui-même.

Ces méthodes d'analyse permettent d'établir les bases d'un partenariat fructueux entre l'éleveur, le prescripteur et le fabricant du vaccin, en fournis-

sant le moyen le plus objectif d'affiner les procédures qualité en matière de Bonnes Pratiques de Vaccination.

Il ne faut cependant jamais perdre de vue qu'aussi performantes soient-elles, ces méthodes d'analyse utilisées en routine doivent impérativement être confrontées à la visite d'élevage, à l'examen clinique des animaux et au contrôle de la qualité de vaccination au couvoir.

## **Compte-rendu** des résultats de l'enquête BURSAMETER™ effectuée dans des élevages français en 2008-2009

### **INTERVENANTE**

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Anne-Sophie RIVIERE**  
PFIZER Santé Animale, Paris, France

**D<sup>r</sup> Hervé JAUNET,**  
PFIZER Santé Animale, Paris, France

*Les outils de diagnostic performants pour le dépistage de la Maladie de Gumboro (imagerie, PCR) proposés par Pfizer Santé Animale ont permis la collecte de données qui ont démontré, dès 2007, l'émergence d'un virus variant, avec une expression sub-clinique et dont la prévalence a augmenté d'année en année<sup>[1]</sup>.*

*Dans un souci de constante amélioration de son service de diagnostic de la maladie de Gumboro, Pfizer Santé Animale propose aujourd'hui un outil facile d'utilisation pour objectiver par des données chiffrées la taille de la Bourse de Fabricius.*

## Introduction

Les outils de diagnostic performants pour le dépistage de la maladie de Gumboro (imagerie, PCR) proposés par Pfizer Santé Animale ont permis la collecte de données qui ont démontré, dès 2007, l'émergence d'un virus variant, avec une expression sub-clinique et dont la prévalence a augmenté d'année en année<sup>[1]</sup>.

Dans un souci de constante amélioration de son service de diagnostic de la maladie de Gumboro, Pfizer Santé Animale propose aujourd'hui un outil facile d'utilisation pour objectiver par des données chiffrées la taille de la Bourse de Fabricius.

Les résultats d'une enquête nationale réalisée en 2008 vous sont présentés aujourd'hui.

## 1. Le BURSAMETER™, outil de screening de la taille des bourses de Fabricius

Le BURSAMETER™ est un indicateur facile d'utilisation qui permet de quantifier la taille de la Bourse de Fabricius. Cet outil de mesure est par ailleurs utilisé dans les publications internationales<sup>[2], [3]</sup>.

Les mesures relevées n'ont qu'une valeur indicative quant à l'exposition d'un lot de poulet à une immuno-dépression dont la cause la plus fréquente reste et restera la maladie de Gumboro :

- En cas de contamination précoce, ou lors de formes subcliniques de cette maladie, les Bourses de Fabricius seront atrophiées, et la note moyenne (moyenne des notes mesurées à l'aide du Bursameter™) du lot sera inférieure aux valeurs de références.
- En cas de contamination par un virus classique, les Bourses seront dans la première phase de la maladie, hypertrophiées et la note moyenne (moyenne des

notes mesurées à l'aide du Bursameter™) du lot sera supérieure aux valeurs de référence.

Une enquête menée en 2008 en France à l'aide du BURSAMETER™ sur 3090 sujets, prélevés sur 341 lots, a permis à Pfizer Santé Animale, de vérifier la pertinence de l'outil et de définir les valeurs cibles de la taille moyenne attendue pour des prélèvements de Bourses de Fabricius effectués sur des animaux sains, en tenant compte de la diversité de la production avicole française.

Lors de l'enquête, les mesures ont été réalisées entre :

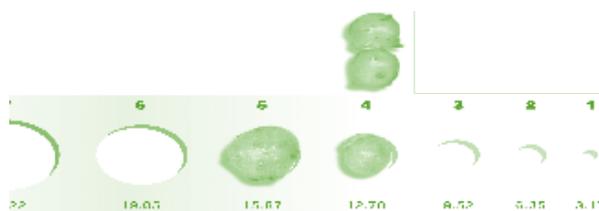
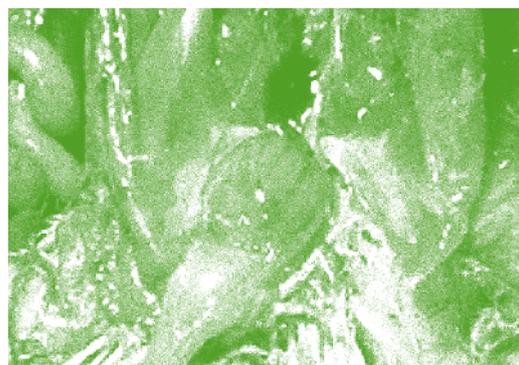
- 21-23 jours et 34-36 jours,
- dans différents types d'élevages (productions) et dans différentes régions.

Les lots ont été prélevés sur des sites sans historique de maladie de Gumboro.

## 2. Comment utiliser le BURSAMETER™ ?

Les mesures doivent être réalisées sur 5 à 10 sujets d'un même lot. La Bourse de Fabricius de chaque sujet doit être prélevée dans son intégralité après retrait des adhérences mésentériques. Deux mesures sont à prendre en considération :

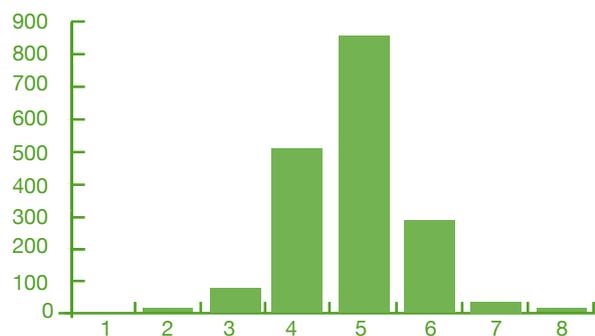
- La **note BURSAMETER™** est le chiffre du plus petit orifice par lequel la Bourse de Fabricius d'un sujet peut passer librement sans forcer. Il ne faut attribuer que des scores entiers.
- Le **score BURSAMETER™** d'un lot correspond à la moyenne des notes obtenues par sujets issus d'un même lot.



### 3. Quels sont les résultats obtenus lors de l'enquête ?

Les résultats généraux présentés ci-dessous correspondent à la moyenne des mesures obtenues toutes productions et tous vaccins confondus.

Graphique 1 : Répartition note Bursameter™ entre 21 et 23 jours



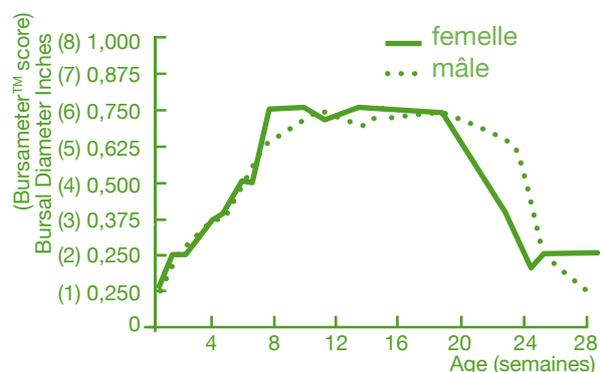
Age de prélèvement	21 – 23 jours	34 – 36 jours
Note BURSAMETER™ (moyenne)	4,85	5,16
Score BURSAMETER™ (intervalle)	[4,5 – 5,5]	[5 – 6,5]

Ces valeurs sont données à titre indicatif et doivent toujours être confrontées à la réalité terrain (historique, résultats technico-économiques, comportement du lot, commémoratifs).

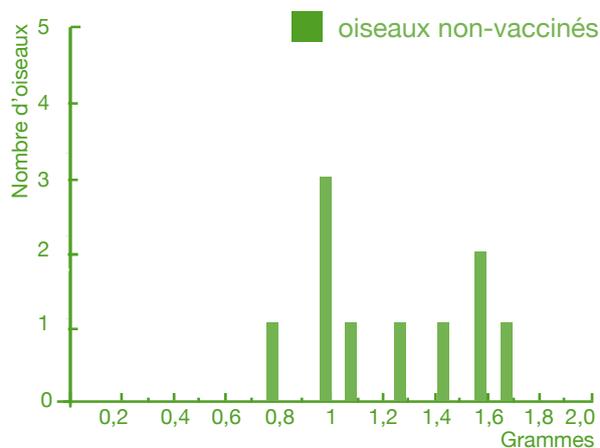
### 4. Pertinence de l'outil BURSAMETER™

Le BURSAMETER™ est un outil pertinent. Les mesures obtenues lors de l'étude sont conformes aux données bibliographiques<sup>[3]</sup>.

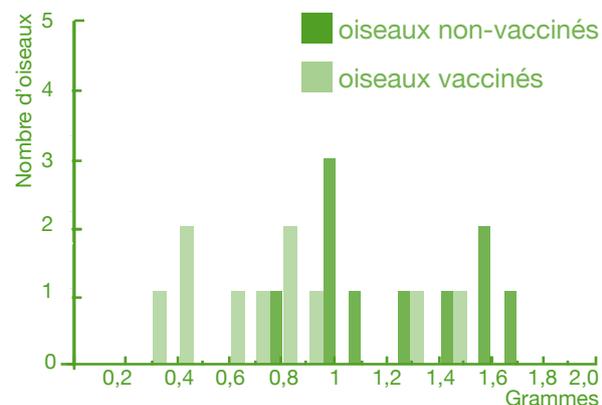
- Augmentation de la taille des Bourses de Fabricius avec l'âge des oiseaux.



- Variabilité intra lot de la taille de cet organe.

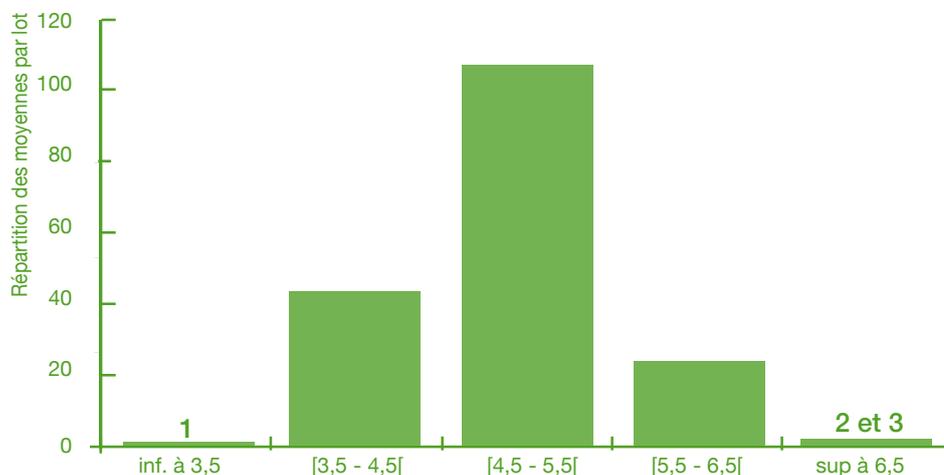


- Impact des souches vaccinales sur la taille des Bourses de Fabricius dans les 10 jours post-vaccination.



## 5. Quelques exemples de résultats

Graphique 2 : Répartition score Bursameter™ entre 21 et 23 jours



### ■ Exemple 1

Poulets standards, vaccinés à 17 jours à l'aide d'un vaccin de souche intermédiaire, bourses de Fabricius mesurées à 22 jours.

Note moyenne prélèvements : **3,1/10**

- Est-on face à une réaction vaccinale ?  
Les vaccins dits intermédiaires engendrent peu de réactions et en général ces dernières n'apparaissent pas avant 10 jours après vaccination. Cette hypothèse est donc peu probable.
- Une autre hypothèse à vérifier, en confrontation avec les observations terrains est la possibilité d'une contamination précoce des poussins, ayant engendré une immuno-dépression. Cette hypothèse mérite d'être vérifiée par la réalisation d'une imagerie et/ou d'une PCR et l'envoi des prélèvements au laboratoire.

### ■ Exemple 2

Poulets standards, vaccinés à 14 et 21 jours à l'aide d'un vaccin de souche intermédiaire, bourses mesurées à 21 jours.

Note moyenne prélèvements : **7,3/10**

La réalisation d'une double vaccination sur des lots de poulets standards n'est pas couramment mise en place. Elle a sûrement été appliquée à la suite d'un épisode clinique. La connaissance de l'historique du site vis-à-vis de la maladie de Gumboro est importante.

- 1 La double vaccination est appliquée pour la première fois sur ce site. Cependant il persiste une pression du virus sauvage.  
Le protocole de décontamination et les mesures de biosécurité ont-ils été correctement appliqués ?
- 2 Lorsque l'on observe la répartition des notes individuelles des sujets testés, on remarque que sur 10 oiseaux testés, 1/5<sup>e</sup> des oiseaux entrent dans la valeur moyenne alors que 4/5<sup>e</sup> des oiseaux ont une note de 8.  
La vaccination a-t-elle été réalisée dans le respect des bonnes pratiques ?

## Références bibliographiques

- 1 A.L. Ledoux, H. Jaunet. VIRUS GUMBORO : émergence d'un nouveau variant, pathogène, dans l'ouest et le sud ouest. 8<sup>e</sup> Journées de la Recherche Avicole, Saint-Malo, 25 – 26 mars 2009.
- 2 A.Sellooui, N. Alloui, S. Djaaba. Étude morphométrique et anatomopathologique de la Bourse de Fabricius du poulet de chair. 6<sup>e</sup> Journées de la Recherche Avicole, Saint-Malo, 30 – 31 mars 2005.
- 3 Kuney and al, Bursa size. 1981.

## Synthèse sur l'Anémie Infectieuse et expérience en Grande-Bretagne

### INTERVENANT

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Richard TURNER,**  
LOHMANN Animal Health, Cuxhaven,  
Allemagne

*L'Anémie Infectieuse fait partie des maladies relativement rares touchant les poulets. Cependant, elle peut causer de sérieux problèmes en raison de l'incapacité à stopper le cours de la maladie une fois que le premier cas est établi. Dans les années 1990, j'ai été confronté à un lot de reproducteurs séronégatifs lors de son entrée en ponte et infecté par la suite par le virus de l'anémie infectieuse. Les reproducteurs n'avaient comme dans chaque cas, aucun signe clinique, mais leurs progénitures ont subi une forme sévère de la maladie des ailes bleues avec des animaux immunodéprimés : ce fut un désastre économique. Il a été évalué par la société impliquée, une perte due à la maladie (manque de performance et mortalité) de 200 000 euros. Cette infection a touché une ferme de 12 000 reproducteurs. La politique de l'entreprise était de ne pas vacciner, mais de tester les futurs reproducteurs et de décider ensuite. Cependant, en raison d'une omission, ceux-ci n'ont jamais été testés !*

L'Anémie Infectieuse fait partie des maladies relativement rares touchant les poulets. Cependant, elle peut causer de sérieux problèmes en raison de l'incapacité à stopper le cours de la maladie une fois que le premier cas est établi. Dans les années 1990, j'ai été confronté à un lot de reproducteurs séronégatifs lors de son entrée en ponte et infecté par la suite par le virus de l'anémie infectieuse. Les reproducteurs n'avaient comme dans chaque cas, aucun signe clinique, mais leurs progénitures ont subi une forme sévère de la maladie des ailes bleues avec des animaux immunodéprimés : ce fut un désastre économique. Il a été évalué par la société impliquée, une perte due à la maladie (manque de performance et mortalité) de 200 000 euros. Cette infection a touché une ferme de 12 000 reproducteurs. La politique de l'entreprise était de ne pas vacciner, mais de tester les futurs reproducteurs et de décider ensuite. Cependant, en raison d'une omission, ceux-ci n'ont jamais été testés !

Depuis, nous recommandons toujours de donner aux reproducteurs une dose complète de vaccin vers 12 semaines d'âge, pour s'assurer d'une immunité adéquate et d'une transmission de haut niveau d'anticorps maternels aux poulets. Récemment, il y a eu plusieurs cas de maladie des ailes bleues tant au Royaume-Uni qu'en République d'Irlande avec des pertes sévères. Dans ces cas, les problèmes ont été liés à la vaccination partielle et l'utilisation de vaccins injectables. Quelques éleveurs ont utilisé des doses partielles de vaccin, une politique avec laquelle nous ne sommes pas d'accord et le résultat est maintenant évident.

Le virus de l'anémie infectieuse est transmis à la fois verticalement et horizontalement, et est, relativement résistant à la désinfection. Dans les années passées, quand l'infection par les salmonelles dans les troupeaux de reproducteurs était moins bien gérée et les bâtiments parfois moins bien nettoyés, les reproducteurs étaient infectés avant la ponte, souvent autour de 10-12 semaines d'âge. L'infection à cet âge-là diminuait probablement leur capacité à répondre de façon optimale à certains vaccins, mais les futurs reproducteurs ne présentaient jamais de façon claire des signes cliniques associés à ce passage viral. Grâce à cette infection précoce, les oiseaux entraînent en ponte avec de bons niveaux d'anticorps et les transmettaient à leurs progénitures. Les poulets possédaient par conséquent une protection de 2-3 semaines contre le virus pouvant être présent dans l'environnement ou transmis par d'autres oiseaux.

Si un reproducteur est infecté pour la première fois durant la période de ponte, le virus peut être transmis verticalement via l'œuf. Les poussins viropositifs peuvent alors développer la maladie des ailes bleues et une

sévère immunodépression. Ces poussins infectés par voie verticale peuvent aussi transmettre le virus horizontalement à d'autres oiseaux non infectés ; ce qui concourt à l'immunodépression des lots et au développement de maladies comme la dermatite gangréneuse ou la maladie de Marek.

A l'autopsie, les poulets atteints présentent une variété de lésions. On rencontre souvent une infection de la peau par des clostridies, particulièrement sur les ailes (d'où le nom de maladie des ailes bleues), et de l'anémie en raison de l'effet du virus sur les cellules précurseurs des globules rouges. De la même manière, les oiseaux ont moins de lymphocytes T. Ces cellules sont responsables entre autres, de la régulation du système immunitaire, de la reconnaissance des pathogènes et de la destruction des cellules infectées par les virus. Cette dépression en lymphocytes T mène donc au développement d'infections secondaires.

L'infection touche de nombreux lots de poulet possédant des niveaux d'anticorps maternels inadéquats. Ces lots sont toujours sujets à de mauvais résultats (mortalité, augmentation des indices de consommation...).

De plus, le diagnostic de la maladie s'avère compliqué quand les niveaux d'anticorps de la plupart des lots de poulets ne sont pas contrôlés. En effet, il est difficile de différencier l'infection de niveaux d'anticorps maternels élevés. L'isolement viral ou les techniques PCR seraient utiles, mais la plupart des couvoirs examinent rarement le problème.

La vaccination des poulets semblerait être une bonne idée cependant les vaccins vivants sont actuellement «trop chauds» pour être utilisés sur de jeunes oiseaux ayant des niveaux d'anticorps trop bas. Un vaccin vivant plus atténué pourrait être utile dans le futur.

La vaccination avec un vaccin vivant dans l'eau est un plan de prévention simple et rentable. Comme avec tous les vaccins dans l'eau, il est essentiel de s'assurer que tous les oiseaux soient bien vaccinés et donc de contrôler les réponses sérologiques. Une lente séroconversion suggère une mauvaise vaccination et la diffusion horizontale du virus pourra toucher des oiseaux mal vaccinés.

Enfin, cette maladie peut représenter de longues et importantes pertes financières pour les couvoirs, notamment lorsque des reproducteurs séronégatifs sont infectés pendant la ponte. Une vaccination contrôlée et un suivi sérologique sont donc essentiels.

## **L'hépatite virale à inclusion** une pathologie toujours d'actualité

### **INTERVENANTE**

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Pascale RIGOMIER-BARRAT**  
CELTIVET, Ploumagoar, France

*L'hépatite virale à inclusion est connue depuis plus de 40 ans. Elle affecte principalement les jeunes poulets et poulettes gallus au cours de leurs premières semaines de vie. Elle se caractérise par une mortalité en pic et la présence de foies pâles à jaunes avec un piqueté hémorragique chez les animaux malades. Cette pathologie engendrée par des adénovirus, assez fréquente dans le passé à l'étage des reproducteurs, s'exprime aujourd'hui de façon sporadique à l'étage de la production. Sa réémergence s'explique probablement par l'application de mesures de biosécurité strictes aux étages de sélection et de multiplication.*

## Introduction

Décrite pour la première fois en 1963 aux Etats-Unis, l'hépatite à inclusion a aussi été trouvée au Canada, au Royaume Uni, en Australie, en Italie, en Irlande et en France.

Elle atteint principalement les poulets mais elle est décrite chez la dinde, le pigeon, l'oie, le perroquet, le faucon... Elle se caractérise par une mortalité soudaine en pic, étalée sur 5-6 jours entre 2 et 7 semaines d'âge. Certains cas ont été rapportés sur des animaux âgés de 20 semaines. Les poussins malades sont fiévreux et ébouriffés. Ils restent prostrés 48 heures puis meurent ou guérissent. La mortalité moyenne est de 10 %. Elle peut atteindre 30 à 40 % dans certains cas. Le lot devient hétérogène. L'immunodépression induite favorise l'apparition d'autres pathologies bactériennes ou virales sur le lot atteint. Par ailleurs, les virus de la maladie de Marek, de l'anémie infectieuse ou de la maladie de Gumboro favorisent et aggravent l'expression clinique de l'hépatite virale à inclusion.

## 1. A l'autopsie, les lésions sont assez évocatrices

- Le foie est pâle et volumineux, de couleur mastic à jaune avec un piqueté hémorragique.

Eventuellement :

- Les muscles présentent des microhémorragies,
- La moelle osseuse est décolorée,
- Les reins sont volumineux,
- Le péricarde contient un liquide jaunâtre,
- La Bourse de Fabricius et le thymus sont atrophiés,
- La peau et la graisse sont colorées en jaune.

## 2. L'hépatite virale est provoquée par des adénovirus

Les adénovirus sont des virus fréquents en élevage de volaille. Les scientifiques les ont classés en trois groupes à partir de l'étude de leur génome :

**Figure 1 : Séparation des adénovirus aviaires en 3 groupes différents (Hess)**

Groupe I		Groupe II		Groupe III	
Poulets	FAV 1 à 12	Dinde	HEV	Poulet	EDS
Oies	GAV 1 à 3	Faisan	MSDV		
Canards	DAV2	Poulet	AASV		
Dindes	TAV 1 et 2				
Pigeons	PiAV				

La majorité des adénovirus des groupes II et III sont associés à des pathologies spécifiques : l'entérite hémorragique de la dinde (HEV), la maladie de la rate marbrée du faisan (MSDV), la maladie des œufs hardés ou EDS.

Les adénovirus du Groupe I sont responsables de l'hépatite virale à inclusion, du syndrome de l'hydropéricardite (HP), des érosions de gésier et de la bronchite

virale de la caille mais tous ne sont pas pathogènes. Ils se répartissent en 12 sérotypes qui ne présentent pas d'immunité croisée. Tous les sérotypes sont susceptibles de provoquer l'hépatite virale à inclusion ; cependant les sérotypes 4 et 8a sont les plus fréquemment incriminés.

Après étude des génomes des adénovirus de groupe I, les scientifiques distinguent 5 génotypes, de A à E.

Figure 2 : Nomenclature des adénovirus aviaires du Groupe I

Génotype	Sérotype (Classification ICTV)
A	1
B	5
C	4
C	10
D	2
D	3
D	9
D	11
E	6
E	7
E	8a
E	8b

Au sein d'un même sérotype, les adénovirus présentent une pathogénicité variable. Par contre les adénovirus virulents ont des caractéristiques génétiques communes détectables par PCR.

### 3. Le virus se transmet par voie verticale ou horizontale.

Les poules reproductrices exposées en période de ponte vont transmettre le virus à leur descendance via l'œuf embryonné pendant 3 à 6 semaines jusqu'au développement de leur immunité. Il n'est pas rare d'isoler 2 ou 3 sérotypes d'adénovirus dans un même troupeau. L'infection peut devenir latente et s'exprimer à la faveur d'un stress, comme le pic de ponte par exemple.

La transmission horizontale est aussi importante. Le virus est présent dans les fèces, la trachée, le mucus nasal et les reins. Le virus peut être transmis par toutes les excréments mais il se concentre surtout dans les fientes infectées. L'infection se développe plus lentement et plus tardivement lorsque les anticorps maternels sont épuisés.

Le diagnostic habituel est posé à partir de l'examen histopathologique de foies malades conservés dans le formol. Les prélèvements positifs présentent des inclusions typiques dans le noyau des cellules hépatiques. Cette analyse peut être complétée par des tests sérologiques ou par la PCR.

En France, nous utilisons la technique d'immuno-précipitation en gélose à partir d'extrait viral issu de foies infectés et considéré comme l'antigène. Cet antigène est mis en présence de plusieurs sérums positifs de référence. L'apparition d'un arc de précipitation dans la gélose permet de caractériser le virus incriminé. Pour confirmation, des prises de sang sont réalisées 3 semaines après apparition de la pathologie sur le trou-

peau infecté. Le sérum obtenu est mis en présence de l'antigène. C'est une approche rapide et peu coûteuse mais elle demande une charge virale importante et elle est parfois difficile à interpréter.

Les canadiens ont développé la technique ELISA. Elle est spécifique de chaque sérotype. Son interprétation est délicate car les adénovirus – pathogènes ou non – sont très fréquents en volaille : des études sérologiques ont montré que 75 à 100 % des parquets de reproducteurs étaient positifs et que la plupart d'entre eux étaient atteints par plusieurs sérotypes. Ces difficultés limitent l'usage de l'ELISA au contrôle de troupeau dont le statut est très protégé (ex : troupeau SPF) ou au suivi vaccinal.

Ces dernières années, le diagnostic s'est affiné par le développement des techniques génétiques : la REA (Restrictive Enzyme Analysis) et la PCR (Polymérase Chain Reaction). Elles ont permis de détecter les adénovirus de groupe I en général quels que soient leurs sérotypes, de tracer les adénovirus selon leurs génotypes et leurs sérotypes. Ces méthodes très fines restent coûteuses et ne sont pas des méthodes de routine pour le diagnostic en élevage de poulets de chair. Elles sont utilisées pour cartographier les adénovirus pathogènes dans les troupeaux de parentaux et de grands-parentaux.

Il n'existe pas de traitement vis-à-vis de l'hépatite virale. Seules des mesures d'accompagnement seront mises en place : augmenter la température dans le bâtiment, vacciner vis-à-vis des pathologies immuno-dépressives (maladie de Marek, anémie infectieuse, maladie de Gumboro), faciliter l'accès à l'eau, stimuler les défenses de l'organisme par l'administration de vitamine E et Sélénium. Sur les poulets de chair, la mise en place d'un programme lumineux a pour objectif de réduire l'hétérogénéité du lot.

En Australie et aux Etats-Unis, les reproducteurs peuvent être immunisés avec des vaccins contenant de l'adénovirus de sérotype 8 ; en Asie et en Amérique du Sud, avec des vaccins de sérotype 4. En Europe, aucun vaccin n'est enregistré mais des autovaccins sont élaborés selon les profils des troupeaux incriminés dans certains pays européens. Cette vaccination de type inactivé rompt la transmission verticale et ap-

porte des anticorps maternels aux poussins vis-à-vis du sérotype vaccinal. Les anticorps limitent l'apparition des lésions sur la descendance.

Les adénovirus persistent dans l'environnement extérieur. Ils peuvent rester longtemps infectants dans l'eau, l'aliment ou les fèces. Le personnel, le matériel d'élevage et le transport sont aussi des vecteurs passifs.

Pour éviter la transmission horizontale entre lots d'animaux, les règles strictes d'hygiène et de gestion d'élevage sont à observer. Les adénovirus sont résistants aux pH compris entre 3 et 9, à la chaleur et à certains désinfectants (phénol, alcool...). Ils sont sensibles au formaldéhyde, aux ammonium quaternaires,... Les bâtiments atteints feront l'objet d'une désinfection soignée après avoir évacué la litière.

#### 4. Pourquoi l'hépatite virale à inclusion est-elle toujours une pathologie d'actualité ?

Depuis près de 20 ans, les filières avicoles mettent en place des programmes d'hygiène et de biosécurité stricts pour éradiquer certains pathogènes comme la leucose, les salmonelles... Les mesures les plus strictes sont appliquées au sommet de la pyramide de production (les grands-parentaux et les parentaux), ce qui limite le contact de ces troupeaux avec les adénovirus. Les cas d'hépatites virales sont très rares sur ces étages de production. Les adénovirus de groupe I sont partagés par de nombreux oiseaux et particulièrement résistants dans le milieu extérieur. Les autres étages de production moins protégés sont donc susceptibles d'être infectés alors qu'ils ne reçoivent pas ou

peu d'anticorps maternels. Lorsque les reproducteurs sont atteints en cours de ponte, ils ne présentent aucun symptôme mais ils excrètent pendant 3 à 6 semaines. L'alerte est donnée par l'apparition de la pathologie en élevage de poulets de chair avec souvent des mélanges de parquets de reproducteurs et un mélange d'adénovirus dans des bâtiments moins faciles à désinfecter. Remonter à la ou les sources d'infections devient long et complexe.

Le Canada qui présente un modèle de production assez proche du nôtre a vécu ce scénario ces dix dernières années.

### Références bibliographiques

- 1 Capua I. and al ; Isolation and characterization of an adenovirus associated with inclusion body hepatitis in psittacine birds ; *Avian Path.* (1995), 24, 717-722.
- 2 Jensen E. and al ; Inclusion Body Hepatitis : Control in Breeder and Broiler Chickens; *Avia*, vol 2, n°1.
- 3 Hess M. ; Detection and differentiation of avian adenoviruses : a review ; *Avian Path.* (2000), 29, 195-206.
- 4 Matthews T.D, Protection of broiler breeders against a strain of fowl adenovirus and characterization of several fowl adenovirus serotypes – thesis (2003)
- 5 Mc Ferran J.B and al ; Group I Adenovirus Infection; *Diseases of Poultry* (2003)11<sup>th</sup> ed.
- 6 Shivaprasad H.L and al ; Group I adenovirus and avian adeno-associated virus in turkey poults with inclusion body hepatitis ; *Avian Path.* (2001), 30, 661-667.

## Caractérisation de souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées à partir de la trachée chez la dinde : intérêts et limites du diagnostic bactériologique

### INTERVENANTS

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Eric THIBAUT**

BIOVAC, Beaucouzé, France

**Eric THIBAUT, Nelly LESCEAU,**

**Hubert GANTELET**

BIOVAC

*Ornithobacterium rhinotracheale* est un contaminant majeur de l'arbre respiratoire chez la dinde, capable de provoquer des lésions d'aérosacculite et de pneumonie fibrino-purulente à l'origine de retards de croissance, mortalités et saisies à l'abattoir fortement préjudiciables à l'économie de l'élevage. Cependant, même en présence de lésions pulmonaires évocatrices, son isolement à partir des poumons reste délicat pour le laboratoire de diagnostic, alors qu'il est relativement aisé à partir de la trachée des mêmes animaux. Dans une étude menée en partenariat avec l'équipe de SELVET, BIOVAC a montré qu'en l'absence d'isolement d'*Ornithobacterium rhinotracheale* à partir de lésions pulmonaires, l'isolement de cette bactérie à partir de la trachée n'a qu'une faible valeur diagnostique. Cependant, la valeur prédictive de l'isolement d'*Ornithobacterium rhinotracheale* à partir de la trachée est nettement augmentée en procédant au typage sérologique d'au moins 2 colonies isolées en culture directe et en recherchant les sérotypes 1 et 4, majoritairement impliqués dans les infections respiratoires graves dues à *Ornithobacterium rhinotracheale*.

## Introduction

Les souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* sont fréquemment et assez facilement isolées de la trachée chez la dinde ; certaines ont en outre la capacité de coloniser l'arbre respiratoire profond, provoquant des lésions d'aérosacculite et de pneumonie fibrino-purulente à l'origine de retards de croissance, mortalités et saisies à l'abattoir fortement préjudiciables à l'économie de l'élevage.

Toutefois, ce tableau clinique et lésionnel étant commun à celui d'autres infections bactériennes voire virales, l'isolement et l'identification d'*Ornithobacterium rhinotracheale* sont indispensables pour confirmer le diagnostic et engager si nécessaire des examens complémentaires, tels qu'un antibiogramme. Ceci conduit naturellement les laboratoires de diagnostic à entreprendre la recherche d'*Ornithobacterium rhinotracheale* à partir de lésions pulmonaires chez la dinde, lorsque l'examen clinique oriente le diagnostic vers une suspicion d'infection par *Ornithobacterium rhinotracheale*.

Malheureusement, l'isolement de cette bactérie à partir des organes « cibles » reste délicat et les laboratoires sont régulièrement confrontés à des bactéries sur-infectantes qui masquent *Ornithobacterium rhinotracheale* ou à des lésions trop évoluées pour permettre l'isolement du germe. Par contre, son isolement à partir de la trachée est relativement aisé, ce qui justifie sa recherche en présence de mucus trachéal ou concomitamment à la mise en culture d'organes présentant des lésions.

Dès lors se posent de nombreuses questions :

- Existe-t-il des différences entre souches au sein de l'espèce *Ornithobacterium rhinotracheale* ?
- Quelles sont les caractéristiques des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées de poumons, impliquées dans des épisodes cliniques coûteux pour l'éleveur ?
- Quelle est la signification de l'isolement de souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* dans la trachée d'une dinde présentant des lésions pulmonaires ?

Afin de fiabiliser le diagnostic d'infection à *Ornithobacterium rhinotracheale*, BIOVAC a développé depuis 2006 une méthode de classification sérologique des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* et la production d'immunsérums à destination des laboratoires de diagnostic vétérinaire. Cette technique a notamment permis de répondre aux questions listées ci-dessus.

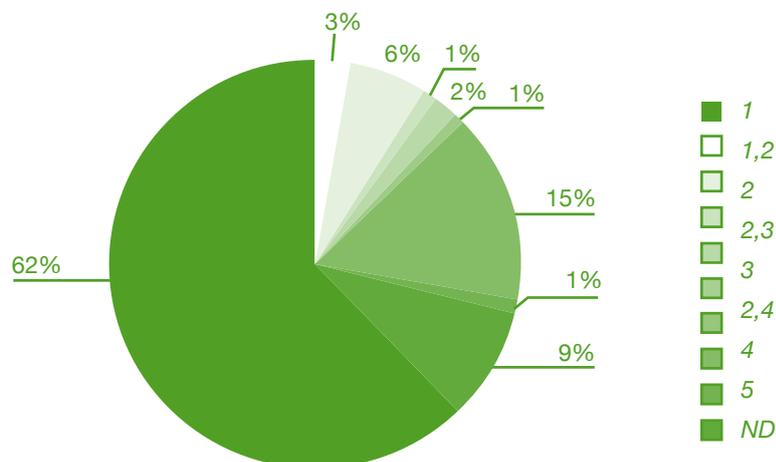
## 1. Diversité des souches d'*ornithobacterium rhinotracheale* isolées chez la dinde

5 sérotypes de souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* ont été décrits à ce jour à partir de prélèvements réalisés sur des dindes.

91 % d'une population de 162 souches isolées de cas cliniques et analysées entre 2008 et 2010 ont été classées parmi les 5 sérotypes décrits (figure 1).

Pour de rares souches, l'existence de réactions croisées aboutit à la création de sérotypes mixtes (sérotypes 1,2 , 2,3 ou 2,4).

Figure 1 : Répartition des sérotypes des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale*



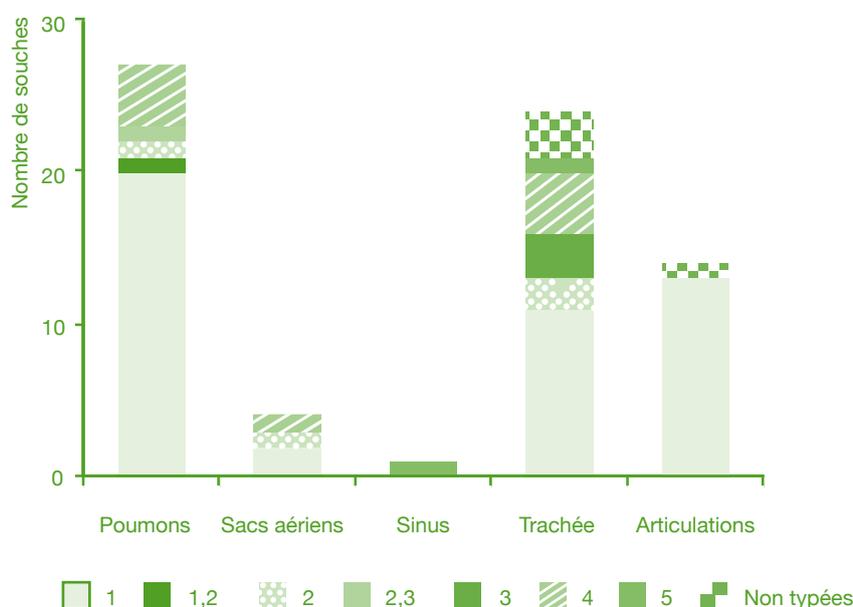
La diversité des souches analysées est importante, même si le sérotype 1 caractérise environ 60 % des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* et que les 3/4 des souches appartiennent soit au sérotype 1, soit au sérotype 4.

## 2. Caractéristiques sérologiques de souches isolées à partir de différents organes chez la dinde

70 souches isolées de 70 cas cliniques documentés survenus chez des dindes ont été analysées (1 clone par cas clinique) ; généralement la recherche d'*Ornithobacterium rhinotracheale* a été réalisée chez plusieurs animaux du même lot à partir de trachées, d'organes présentant des lésions (articulations, poumons voire sacs aériens) et plus rarement de sinus.

Lorsqu'une souche d'*Ornithobacterium rhinotracheale* a été isolée à partir d'un organe présentant des lésions, le résultat du typage sérologique apparaît en regard de l'organe concerné ; si l'isolement n'a pu être concluant à partir de l'organe lésé mais a pu se faire à partir de trachée, le résultat est présenté en regard de cet organe (Figure 2) :

Figure 2 : Répartition des sérotypes des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* en fonction de l'organe d'isolement



Le sérotype 1 est surreprésenté parmi les souches isolées de poumons et d'articulations - respectivement 74 % et 93 % - alors qu'il ne caractérise que 46 % des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées à partir de trachées.

La comparaison de ces proportions à l'aide du test exact de Fisher montre que :

- La fréquence d'isolement du sérotype 1 dans les articulations est très significativement supérieure à celle de la trachée (p-valeur<sub>bilatérale</sub> = 0.0050).
- La fréquence d'isolement du sérotype 1 dans les poumons est significativement supérieure à celle de la trachée (p-valeur<sub>bilatérale</sub> = 0.0492).

Ces résultats conduisent à considérer que **chez la dinde les souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* de sérotype 1, plus fréquemment isolées d'organes présentant des lésions, sont plus invasives et potentiellement plus pathogènes que celles d'autres sérotypes, préférentiellement isolées dans la trachée -porte d'entrée du germe- : les souches de sérotype 1, plus que les autres, semblent donc représenter un risque pour la santé des dindes.**

### 3. Signification de l'isolement d'*Ornithobacterium rhinotracheale* dans la trachée de dindes présentant des lésions pulmonaires

En l'absence d'isolement sur des lésions pulmonaires, le laboratoire de diagnostic se fonde souvent sur le résultat de l'analyse bactériologique mise en œuvre à partir d'un prélèvement de mucus trachéal pour établir le diagnostic bactériologique de l'infection et le cas échéant réaliser un antibiogramme.

Quelle signification donner à l'isolement d'*Ornithobacterium rhinotracheale* sur la trachée en l'absence d'isolement sur poumons ?

Afin de répondre à cette question, BIOVAC a comparé les sérotypes des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées dans la trachée et les poumons du même animal.

L'étude a été conduite en collaboration avec l'équipe du cabinet vétérinaire Selvet Conseil à Moréac en 2009 et 2010, à partir de dindes issues de différents élevages, apportées au laboratoire malades ou mortes et présentant à l'autopsie des lésions pulmonaires compatibles avec une infection par *Ornithobacterium rhinotracheale*.

A chaque fois, 2 colonies d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées en culture directe à partir d'un poumon présentant des lésions d'un même animal, et 2 ou 3 colonies d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées en culture directe à partir de la trachée du même animal que précédemment, ont été prélevées par le cabinet vétérinaire Selvet Conseil à Moréac et adressées à BIOVAC pour être sérotypées.

#### ■ Le détail des résultats est présenté sur le site web des RIPPA ([www.rippa.fr](http://www.rippa.fr))

Il en ressort les observations et conclusions suivantes :

- Les souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées à partir de la trachée sont assez souvent différentes de celles isolées des poumons : **les analyses réalisées sur des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* isolées par défaut à partir de la trachée peuvent donc conduire à des conclusions erronées** (discordance entre la sensibilité aux antibiotiques mesurée *in vitro* et la réponse au traitement sur le terrain).
- Plusieurs souches de sérotypes différents peuvent coloniser et cohabiter dans la trachée d'une même dinde, parmi lesquelles se trouve toujours le sérotype des souches isolées dans les poumons : la valeur prédictive de l'isolement d'*Ornithobacterium rhinotracheale* sur trachée est donc très nettement améliorée en procédant au typage de 2 voire 3 colonies isolées en culture directe à partir de la trachée de chaque animal. **Pour la population étudiée, le typage systématique de 2 colonies isolées en culture directe à partir de la trachée a permis de retrouver le sérotype de la souche responsable des lésions pulmonaires dans 100 % des cas.**
- Les dindes d'un même élevage peuvent être colonisées par des souches d'*Ornithobacterium rhinotracheale* de sérotypes différents : **il est donc utile d'analyser séparément plusieurs sujets d'un même lot lors de la mise en œuvre d'un diagnostic bactériologique d'infection par *Ornithobacterium rhinotracheale* en élevage de dindes.**

## Conclusions

En l'absence d'isolement d'*Ornithobacterium rhinotracheale* à partir de lésions pulmonaires, l'isolement d'une souche d'*Ornithobacterium rhinotracheale* à partir de la trachée a peu de valeur diagnostique.

Celle-ci est nettement augmentée en procédant au typage sérologique d'au moins 2 colonies isolées en culture directe à partir de la trachée et en recherchant les sérotypes majoritairement impliqués dans les pneumonies fibrino-purulentes et les aérosacculites dues à *Ornithobacterium rhinotracheale*.

Par ailleurs, plusieurs sérotypes d'*Ornithobacterium rhinotracheale* peuvent coexister au sein d'un lot de dindes et infecter différents animaux. Il convient donc, lors de la mise en œuvre du diagnostic bactériologique, d'analyser séparément plusieurs sujets du même lot : cette précaution permettra de tester l'antibiosensibilité de souches de sérotypes différents et le cas échéant de les associer lors de la prescription d'un autovaccin.

## Infections dues au nouveau virus REO ERS, en France et en Europe

### INTERVENANTS

**D<sup>r</sup> Vétérinaire Pieter KÜHNE**

**D<sup>r</sup> Jean-Marie WATIER**

INTERVET SA, Beaucouzé, France

**A.A.W.M. van Loon<sup>(1)</sup>, H.C. Koopman<sup>(1)</sup>,**

**W. Kosman<sup>(1)</sup> and A. Malo<sup>(1)</sup>.**

<sup>(1)</sup> Intervet International BV, P.O. Box 31, 5830 AA Boxmeer,  
The Netherlands

*Cet article décrit l'isolement et l'identification d'un nouveau Réovirus virulent, appelé Souche de Réovirus Entérique (ERS). La virulence, la diffusion du virus ainsi que le mode de réaction à différents anticorps monoclonaux sont rapportés. La recherche d'isolats du terrain a révélé que la souche de Réovirus ERS est présente dans d'autres pays, isolée à partir de cas de syndromes de malabsorption. De plus, des données d'efficacité après l'utilisation d'un nouveau vaccin monovalent Réovirus ERS sont également présentées (vaccin non encore commercialisé en France en mai 2010).*

## Introduction

Les infections à Réovirus aviaire chez les poulets entraînent des problèmes économiques majeurs pour les producteurs de volailles à travers le monde. Principalement chez les souches lourdes, les Réovirus aviaires sont associés à une variété de maladies incluant des arthrites virales/ténosynovites infectieuses, boiteries, syndrome de malabsorption, retards de croissance, péricardites, myocardites, entérites et immunosuppression. Récemment, une mortalité élevée a été rapportée en Pologne chez des poulets de chair provenant de parents bien vaccinés. Des difficultés de déplacement et une forte mortalité sont les signes les plus communs dans les lots affectés. Des points blancs sur le foie et de la péricardite sont observés à l'autopsie. Finalement, l'agent causal, une souche appelée Réovirus Entérique (ERS), a été isolé des poulets affectés. Dans cet article, sont présentés les propriétés de cette nouvelle souche de Réovirus et le travail qui a conduit à la production d'un nouveau vaccin.

## I. Matériel et méthode

### ■ Isolement viral

Des organes (foie, reins, thymus, tonsilles caecales, rate, intestin et cœur) de poulets touchés cliniquement ont été broyés individuellement et utilisés pour l'isole-

ment viral. Pour les essais d'isolement, des fibroblastes d'embryon de poulet ou des cellules de foie d'embryon de poulet ont été utilisés.

### ■ Caractérisation du virus

#### Tests d'immunofluorescence :

Différentes souches de Réovirus aviaires ont été caractérisées à l'aide de tests d'immunofluorescence en utilisant des anticorps polyclonaux et différents anticorps monoclonaux. Les souches de virus investiguées étaient la 1133, 2408, 2177, UM203, Olson, 1733 et CO8 (toutes décrites dans la littérature). Des vaccins vivants disponibles commercialement, Enterovax (MBL, USA) et Tensynvac (Intervet Inc., USA), et des souches de Réovirus isolées récemment dans différents pays ont été inclus dans la comparaison.

présents dans les différents sérums a été quantifiée au moyen du test d'immunofluorescence contre un Réovirus de souche 1133, avant d'être utilisée dans la méthode de réduction des plages de lyse. Les anticorps anti-Réovirus induits par les différentes souches de Réovirus (1733, 2408 et 2177) et quatre vaccins commercialement disponibles ont été comparés sur leur capacité à neutraliser la souche de Réovirus ERS dans la méthode de réduction des plages de lyse. La capacité des anticorps induits par les souches de Réovirus ERS, à neutraliser les souches de Réovirus 1733, 2408, 2177 et ERS, a été évaluée dans cette étude.

#### Méthode de réduction des plages de lyse :

Les relations antigéniques entre les isolats de Réovirus ont été déterminées par la méthode de réduction des plages de lyse. La quantité d'anticorps anti-Réovirus

### ■ Études de pathogénicité et de diffusion de la souche de Réovirus ERS

Dans une première expérimentation, des poulets EOPS d'un jour ont été inoculés oralement avec la souche de Réovirus ERS. Dans une seconde expérimentation, des poulets EOPS de 3 semaines ont été inoculés avec une souche de Réovirus ERS par voie plantaire ou sous cutanée. La présence de virus dans le foie, le cœur, la rate, la bourse de Fabricius, les tonsilles caecales, les

tendons, le pancréas, l'estomac entier (proventricule et gésier) et les intestins, a été recherchée à 3, 7, 14 et 21 jours après inoculation dans les deux expérimentations. Dans une troisième expérimentation, des oiseaux EOPS de 9 semaines ont été inoculés avec une souche de Réovirus ERS par voie intra plantaire et la mortalité a été observée quotidiennement.

## ■ Retard de croissance induit par une souche de Réovirus ERS chez des poulets commerciaux

Deux groupes de 15 poussins de chair commerciaux d'un jour (avec des anticorps maternels anti-Réovirus) ont été inoculés oralement ou par voie sous-cutanée avec une souche de Réovirus ERS (de Pologne) en utilisant une dose de  $5 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/oiseau. Deux autres groupes de 15 poulets de chair commerciaux par groupe de même origine, ont été inoculés oralement ou par voie sous-cutanée avec la souche de Réovirus ERS

(de Pologne) à 8 jours d'âge. Quinze animaux du même âge et de la même origine ont été inoculés et utilisés comme contrôles négatifs. Les animaux ont été pesés chaque semaine pendant une période de 7 semaines pour examiner le retard de croissance. A chaque pesée, le poids moyen des animaux non inoculés a été pris comme base 100.

## ■ Les études de protection utilisant un vaccin inactivé monovalent ERS

Des animaux EOPS de 3-4 semaines d'âge ont été vaccinés par voie intramusculaire (0,5 ml/oiseau) avec un vaccin inactivé monovalent Réovirus ERS avec émulsion de type eau dans huile. Des animaux non vaccinés de même âge et de même origine ont servi pour le challenge de contrôle. 3 semaines après vaccination, les sérums ont été testés pour la présence d'anticorps anti-Réovirus par immunofluorescence. 5 semaines après vaccination les animaux ont été challengés par voie

intra plantaire avec la souche pathogène de Réovirus ERS. La mortalité et la morbidité ont été mesurées quotidiennement. Le score moyen du degré d'inflammation et de décoloration de la pulpe plantaire et du tibio-tarse a été mesuré pendant une période de 14 jours après challenge. Les scores vont de 0 à 3,5 dans lesquels 0 = aucune inflammation et 3,5 = inflammation sévère dans la pulpe plantaire et inflammation dans la totalité du tibio-tarse avec décoloration.

## 2. Résultats

### ■ Isolement de Réovirus à partir de poulets cliniquement affectés

La souche de Réovirus Entérique (ERS) a été isolée du foie, des reins, du thymus, des tonsilles caecales, de la rate et du cœur. Le virus isolé a été déterminé comme Réovirus par la technique d'immunofluorescence en

utilisant des sérums polyclonaux anti-Réovirus de lapin. Les Réovirus isolés ont été purifiés par la méthode de purification des plages et ensuite caractérisés.

### ■ Caractérisation de souches de Réovirus en utilisant des anticorps monoclonaux

Les résultats de la caractérisation de différentes souches de Réovirus, à l'aide de l'immunofluorescence en utilisant des anticorps polyclonaux et différents anticorps monoclonaux sont présentés dans le Tableau 2. La souche de Réovirus ERS de Pologne et les isolats de

différentes parties géographiques du globe montrent un panel de réaction distinct avec différents anticorps monoclonaux quand ils sont comparés aux souches de Réovirus qui ont été décrites dans la littérature.

### ■ Méthode de réduction des plages de lyse

Les anticorps anti-Réovirus induits par les différentes souches (1733, 2408 et 2177) et différents vaccins commerciaux sont incapables de neutraliser la souche ERS par la méthode de réduction des plages de

lyse. Au contraire, les anticorps induits par la souche de Réovirus ERS neutralisent les souches de Réovirus 1733, 2408, 2177 et ERS. Les données sont résumées dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Identification de la souche de Réovirus ERS au moyen de la méthode de réduction des plages de lyse**

Virus	Sérum de poulet				
	1733	2408	2177	ERS	Sérum négatif
1733	99	NF	NF	96	-
2408	NF	95	NF	87	-
2177	NF	NF	90	83	-
ERS	0	0	0	97	-

Les sérums de poulets ont été dirigés contre différents Réovirus.  
NF = non fait.

### ■ Pathogénicité et diffusion de la souche de Réovirus ERS

Dans la première expérimentation, la souche de Réovirus ERS a causé 100 % de mortalité dans les 7 jours après l'inoculation orale de poussins EOPS d'un jour. Trois et sept jours après inoculation, le virus a été ré-isolé chez tous les animaux à partir des organes suivants : foie, intestin, tendons, pancréas, tonsilles caecales, rate, bourse de Fabricius, estomac complet (proventricule et gésier) et cœur. Dans la seconde expérimentation, la souche de Réovirus ERS a causé 53 ou 12 % de mortalité quand elle a été inoculée aux oiseaux

EOPS de 3 semaines d'âges respectivement par voie intra-plantaire ou sous-cutanée. Le virus était présent dans tous les organes mentionnés ci-dessus, examinés 3 et 7 jours après inoculation. De plus, chez tous les animaux de 2 semaines d'âge et dans 3 animaux sur 5, une semaine plus tard, la souche de Réovirus ERS a été isolée du pancréas. Dans la troisième expérimentation, la souche de Réovirus ERS a causé 12 % de mortalité quand elle a été inoculée à des oiseaux EOPS de 9 semaines d'âge par la voie intra-plantaire.

### ■ Retards de croissance induits par la souche de Réovirus ERS chez des poulets de chairs commerciaux

A l'âge de 7 semaines, les animaux infectés à un jour par la voie orale ou sous-cutanée ont montré un retard de croissance d'approximativement 34 % comparés aux animaux témoins non infectés. A 7 semaines d'âge, le poids des animaux témoins non infectés était de 2469 ± 261g contre 1635g ± 272g pour les animaux infectés. A l'âge de 7 semaines, les animaux infectés à une se-

maine d'âge par la voie orale ou sous-cutanée ont montré un retard de croissance d'approximativement 25 % comparés aux animaux de contrôle non infectés. A 7 semaines d'âge, le poids pour les animaux de contrôle non infectés était de 2469 ± 261g contre 1842 ± 376g pour les animaux infectés.

### ■ Études de protection utilisant un vaccin monovalent inactivé ERS

Après le challenge, aucun des animaux vaccinés n'est mort ou n'a montré des signes de maladie. Au contraire, 87,5 % des animaux dans le groupe de contrôle challengés étaient malades et 12,5 % de ceux-ci sont morts. Les examens post-mortem ont mis en évidence l'infection virale comme cause de la mort. La réponse sérologique induite par le vaccin monovalent inactivé ERS 3 et 5 semaines après vaccination a été respectivement de 9,6 et 9,2 (log<sub>2</sub>). Quatorze jours après challenge, les scores moyens des pulpes plantaires et des

tibio-tarses étaient de 1,4 pour le groupe vacciné et de 3,1 pour le groupe témoin non vacciné, indiquant que tous les animaux vaccinés étaient protégés, là où aucun des animaux du groupe témoin négatif ne l'était.

### 3. Discussion

Récemment, des mortalités élevées ont été rapportées dans des lots de poulets de chair en Pologne. Même la descendance de parents bien vaccinés a été affectée. L'agent causal a pu être isolé, a été identifié comme un Réovirus et désigné comme une « Souche de Réovirus Entérique » (ERS). Après une purification par la méthode de purification des plages, il a été montré que le Réovirus est hautement pathogène, entraînant une forte mortalité (100 %) chez des poussins d'un jour EOPS infectés oralement. Les études de diffusion sur des oiseaux EOPS de trois semaines infectés par voie sous-cutanée ont révélé que le virus pouvait être ré-isolé de différents organes à 3 et 7 jours après infection. De plus, le virus était encore présent dans le pancréas 3 semaines après infection.

La caractérisation de l'isolat viral de Pologne avec un panel d'anticorps monoclonaux a révélé que le Réovirus isolé avait un panel de réaction distinct quand il est comparé avec les souches de Réovirus qui ont été décrits dans la littérature. De plus, les résultats par la méthode de réduction des plages de lyse ont montré que la souche de Réovirus ERS ne pouvait pas être neutralisée avec des anticorps dirigés contre les souches de Réovirus 1733, 2408 et 2177 ni avec des anticorps induits par différents vaccins à Réovirus inactivés commerciaux. Au contraire, les anticorps induits

par la souche de Réovirus à ERS pouvaient neutraliser les souches de Réovirus 1733, 2408, 2177 et ERS. Il a été conclu que l'isolat polonais était différent des souches isolées examinées dans cette étude. Des études ultérieures utilisant des anticorps monoclonaux ont montré que les isolats d'élevage de différents pays (voir tableau 2) montrent un modèle de réaction identique à celle de la souche de Réovirus ERS comme ce que montre la méthode de réduction des plages de lyse (données non montrées ici) et peuvent être considérées comme appartenant au même groupe. Cela indique que les souches de Réovirus de type ERS sont présentes dans différentes régions géographiques et devraient être considérées en tenant compte des problèmes qu'elles peuvent causer (malabsorption). C'est pourquoi, le besoin pour un vaccin homologue basé sur la nouvelle souche de Réovirus ERS paraissait évident. Pour évaluer l'efficacité d'un tel produit, des expérimentations avec challenge ont été menées.

Des expérimentations montrent que le vaccin monovalent inactivé à Réovirus basé sur l'isolat polonais peut induire une réponse sérologique chez les animaux, protège les animaux vaccinés de la mortalité et des signes cliniques et protège les poulets de lésions sévères dans la voute plantaire et le tibio-tarse.

**Tableau 2 : Identification de différentes souches de Réovirus par Immunofluorescence**

Souche	Identification	Pays	Anticorps monoclonaux					
			Lapin 68A	154	14-67 INT	INT 14-11	INT 13-6	15-1-INT
S-1133	L. van der Heide	USA	+	+	+	+	+	+
2408	Rosenberger	USA	+	+	+	+	+	+
UM 203	Johnson	USA	+	+	+	+	+	+
WVU 1675 Olson	Olson	USA	+	+	+	+	+	+
Enterovax	MBL	USA	+	+	+	+	+	+
Tensynovac	Intervet	USA	+	+	+	+	+	+
1733	Rosenberger	USA	+	+	+	+	+	-
2177	Rosenberger	USA	+	+	+	-	-	+
CO8	Hieronymus, Villegas	USA	+	+	+	-	+	+
ERS	Isolate 1	Poland	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 2	Netherlands	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 3	United Arab Emirates	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 4	Indonesia	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 5	United Kingdom	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 6	South Africa	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 7	Germany	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 8	Belgium	+	+	+	-	-	-
ERS	Isolate 9	Argentina	+	+	+	-	-	-

## Références bibliographiques

- 1 Hieronymus DRK, Villegas P, and Kleven SH. Identification and serological differentiation of several Reovirus strains isolated from chickens with suspected Malabsorption syndrome. *Avian Diseases* 1983; 27: 246-54.
- 2 Johnson DC. Diagnosis, pathology, and etiology of tenosynovitis in broilers and broiler breeders. *Avian Diseases* 1972; 16: 1067-72.
- 3 Olson NO, Shelton DC, and Muro DA. Infectious synovitis control by medication-effect of strain differences and pleuropneumonia-like organisms. *Am J Vet Res* 1957; 18: 735-9.
- 4 Roessler DE, and Rosenberger JK. *In vitro* and *in vivo* characterisation of avian Reoviruses. III Host factors affecting virulence and persistence. *Avian Diseases* 1989; 33: 555-65.
- 5 Rosenberger JK. Characterisation of Reoviruses associated with runting syndrome in chickens. *Int. Union Immunol Soc, Sydney, Australia*. 1983; Proc No 66: 141-152.
- 6 Rosenberger JK, Sterner FJ, Botts S, Lee KP, and Margolin A. *In vitro* and *in vivo* characterization of avian reoviruses. Pathogenicity and antigenic relatedness of several avian reovirus isolates. *Avian Diseases* 1989; 33: 535-44.
- 7 Rosenberger JK, and Olson NO. *Reovirus infections*. In BW Calnek (Ed.), *Disease of Poultry*. Ames: Iowa State University Press. 1991 (9th edn, pp. 639-47).
- 8 Vakharia VN, Read-Connole EL, Frana MF, and Edwards GH. Preparation and characterization of monoclonal antibodies for diagnosis of avian reovirus infection. Published in: «Proceedings of the International symposium on adenovirus and reovirus infections in poultry», Rauschholzhausen, Germany, 1996: 295-304.
- 9 Van der Heide L, Geissler J, and Bryant ES. Infectious tenosynovitis: serological and histopathological response after experimental infection with a Connecticut isolate. *Avian Diseases* 1974; 18: 289-96.
- 10 Van der Heide L, Lutticken D, and Horzinek, M. Isolation of avian Reovirus as a possible etiologic agent of osteoporosis («Brittle bone disease»); «Femoral head necrosis») in broiler chickens. *Avian Diseases* 1981; 25: 847-56.

## Biofilm dans les élevages avicoles : mécanismes de développement et stratégies de contrôle

### INTERVENANT

**D<sup>r</sup> Florent CHAZARENC**

École des Mines de Nantes, Nantes, France

*L'adhésion de micro-organismes sur des surfaces et par conséquent la formation de biofilm est un phénomène naturel très courant qui peut intervenir dans de nombreux environnements. La notion de développement de biofilm ramène le plus généralement à un mode de croissance protégée qui permet aux micro-organismes de se développer et de survivre dans des environnements hostiles (présence de produits chimiques inhibiteurs, prédateurs, courant, température, etc.). En élevage avicole, le développement important de biofilm au sein des canalisations d'acheminement d'eau est souvent la cause de troubles digestifs et de baisse de performance des animaux. Des facteurs tels que l'entartrage ou la corrosion des canalisations favorisent l'établissement de biofilm. Bien que de nombreuses méthodes de contrôle de biofilm aient été développées, l'éradication complète du biofilm n'est pas toujours aisée et peut même s'accompagner localement de phénomènes de résistance. Après avoir décrit les mécanismes de formation du biofilm dans des canalisations d'eau en élevage avicole, cet article présentera les principales techniques d'éradication du biofilm ainsi que les limites associées, et les premiers résultats d'une étude portant sur une méthode alternative : le traitement électromagnétique de l'eau.*

## Introduction

L'eau est le premier élément nécessaire au développement des animaux en élevage avicole. L'eau représente 70 % de la composition corporelle des oiseaux. On distingue deux composantes dans la qualité de l'eau distribuée aux animaux, la qualité chimique et la qualité bactériologique. Des analyses de l'eau distribuée aux animaux sont régulièrement effectuées dans le cadre de la qualification sanitaire et/ou du cahier des charges. Toutefois, indépendamment de la qualité de l'eau amenée à l'abreuvoir, le film qui se développe sur les parois intérieures des conduites, des réservoirs et des abreuvoirs, le biofilm, constitue un environnement idéal pour plusieurs pathogènes sérieux de la volaille. Le but de cet article est de présenter les principaux mécanismes de formation du biofilm dans des canalisations d'eau en élevage avicole, puis de décrire les principales techniques d'éradication du biofilm ainsi que les limites associées. En outre les premiers résultats d'une étude portant sur une méthode alternative : le traitement électromagnétique de l'eau, seront présentés. Une définition établie du biofilm présente cette structure biologique comme « une communauté de bactéries agrégées en microcolonies, enrobées dans une gangue qu'elles ont sécrétée, et adhérant sur une surface inerte ou biologique »<sup>[1]</sup>. On retrouve des biofilms un peu partout dès lors qu'il y a présence de nutriments et d'eau que ce soit dans des canalisations, sur les rochers dans les rivières, dans notre bouche etc. Jusqu'à une période récente, la structure et les fonctions du biofilm n'étaient connues que par des mesures approximatives d'estimation de la biomasse ou de l'activité biologique. Depuis une vingtaine d'année, on assiste à un développement massif de nouvelles techniques permettant de mieux connaître le mode de formation, la nature de l'organisation et l'activité du biofilm :

- photographies au microscope électronique qui permettent de visualiser directement les profils physiques,
- techniques d'analyses moléculaires qui identifient certains micro-organismes d'une communauté, ainsi que leurs fonctions métaboliques,
- micro sondes qui montrent le profil de concentration d'une entité chimique...

Au-delà des problèmes de colmatage du circuit, le développement de biofilm au sein de canalisations d'abreuvoir de poulailler est souvent synonyme de troubles digestifs et de mortalité accrue.

## 1. Mécanismes de formation du biofilm

Les biofilms sont principalement composés de cellules bactériennes et de polymères extracellulaires (PEC). Ils peuvent, par conséquent, être considérés comme des gels de polymères organiques contenant de la biomasse vivante. Les propriétés des PEC ainsi que leur(s) rôle(s) dans le biofilm ne sont pas encore très bien connus. Pour illustrer la forme d'un biofilm, trois conceptions différentes ont été proposées dans la littérature :

- **le biofilm plan** : la conception classique d'un biofilm plan et homogène qui a été proposée par les chercheurs du domaine de la chirurgie dentaire et qui repose sur l'observation de plaques au microscope MET (microscope électronique à transmission),
- **le biofilm « empilement »** : la seconde conception a été élaborée à partir de vue au microscope MFA (microscope à force atomique) de biofilm en croissance à l'intérieur des systèmes de distribution d'eau. Ces chercheurs ont discerné des empilements de microcolonies bactériennes, reliés les uns aux autres par des ponts en PEC, ressemblant en quelque sorte à des colonnes entourées par une phase liquide dans laquelle des protozoaires ont été observés,

- **le biofilm « champignon »** : le dernier type de conception de biofilm a conduit à ce qui est vraisemblablement la représentation la plus courante du biofilm bactérien, à savoir le modèle « champignon » ou « tulipe ». Une étude basée sur l'utilisation de la mesure au MLCB, (microscope laser co-focal à balayage), et de marqueurs fluorescents, a révélée une structure en forme d'amas d'objets ayant la forme de « têtes de champignon », avec des empilements plus fins à la base, le tout pénétré par des canaux permettant une circulation de liquide libre autour et dans les amas.

Les dernières avancées de la recherche permettent une approche plus précise du rôle des biofilms et du fonctionnement global ; mais les mécanismes à l'origine des structures spatiales, de la répartition des microcolonies, des PEC et des canaux est toujours un sujet de controverse. De plus, la nature des biofilms est extrêmement variable selon les conditions dans lesquelles ils se forment.

Figure 1 : Illustration du mécanisme de formation du biofilm (source : <http://www.projeteau.com>)



On considère généralement que le développement d'un biofilm au sein de canalisations s'effectue en 3 étapes :

- 1 **les premières bactéries** colonisent la surface. Elles se multiplient jusqu'à former des petites colonies,
- 2 **les bactéries excrètent des polymères extra cellulaires (PEC)** ce qui donne sa consistance au biofilm et protège la colonie des attaques extérieures. Pro-

gressivement les microcolonies grossissent et sont colonisées par d'autres types de microorganismes (autres bactéries, virus, champignons, protozoaires, métazoaires etc.),

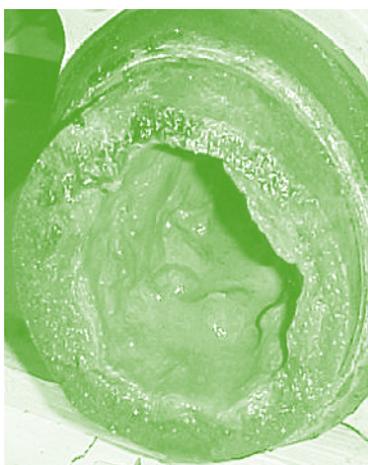
- 3 **le biofilm mature** est constitué de nombreuses microcolonies séparées par des « canaux » aqueux qui permettent un apport des nutriments nécessaires au maintien des micro-organismes.

## 2. Conséquences de la formation du biofilm

Le biofilm est un édifice en équilibre dynamique. Des morceaux de biofilm peuvent constamment se détacher et ainsi permettre à des bactéries de retourner à l'état libre et d'aller coloniser d'autres régions. C'est pourquoi on considère généralement que le biofilm constitue une source permanente de re-contamination du liquide dans lequel il se développe. De plus, le biofilm est un substrat pour des colonies actives de pathogènes. Lorsque le biofilm est bien développé, le système d'abreuvement destiné à garder les oiseaux en

bonne santé peut finalement délivrer une eau riche en pathogènes. Lorsque l'oiseau boit des « morceaux » de biofilm, des bactéries entrent dans son système digestif, ou la température élevée agit comme un incubateur. Les maladies provoquées par cette contamination peuvent affecter sévèrement le lot et ses performances. Le biofilm peut aussi perturber le fonctionnement du système d'abreuvement lui-même (colmatage) et engendrer des pertes d'eau qui vont augmenter l'humidité de la litière (et souvent la production d'ammoniaque)<sup>[2]</sup>.

Figure 2 : Illustration d'une canalisation colonisée par un biofilm



### 3. Facteurs favorisant le développement du biofilm

- **Contamination en amont de l'eau.** Si l'eau utilisée dans le poulailler est déjà contaminée par de nombreuses bactéries, la formation du biofilm n'en sera que plus rapide. Il est d'ailleurs fortement conseillé de bien surveiller la qualité biologique des eaux utilisées pour nourrir les animaux [3].
  - **Nutriments dans l'eau d'abreuvement.** Lorsque des traitements sont administrés aux animaux via l'abreuvoir, certains nutriments peuvent être apportés au biofilm. Il est conseillé de rincer l'abreuvoir après traitement et de minimiser le temps de contact de l'eau contenant le principe actif avec le dispositif. En d'autre terme plus les bactéries trouvent de nutriments dans le liquide, plus elles se développent et plus le biofilm se forme vite. En effet, il arrive de façon régulière que des vitamines ou des substances médicamenteuses (dont les vaccins) soient distribuées via l'eau et le dispositif d'abreuvement. Les solutions vitaminées utilisent habituellement le glucose comme base et les interventions médicamenteuses s'accom-
- pagnent souvent de l'utilisation de poudre de lait. Ces substances organiques se retrouvent sur la paroi du système d'abreuvement et dans le biofilm, fournissant aux bactéries des nutriments dont elles ont besoin.
- **Contamination dans le circuit d'eau.** Bien que le circuit d'eau semble être fermé, un bon nombre de régulateurs de pression sont munis d'un tube fermé sur le dessus par une bille laissant pénétrer l'air et ses bactéries. De plus les nombreuses tétines où s'abreuvent les oiseaux, sont une autre excellente porte d'entrée.
  - **Tartre et corrosion :** la présence de surfaces rugueuses, irrégulières, favorisent l'adhésion, donc la formation du biofilm. Il est donc fortement conseillé de réduire le dépôt de tartre et de contrôler régulièrement la corrosion des canalisations.
  - **Température de l'eau.** Les températures élevées favorisent la prolifération du biofilm. Lorsque les abreuvoirs sont situés proche d'éléments chauffant par exemple le développement de biofilm peut être démultiplié.

### 4. Méthode d'éradication du biofilm

On distingue trois types d'actions pour contrôler le développement du biofilm :

- **Action chimique :** la plupart du temps elle consiste en l'utilisation de bases et d'acides : les bases principalement pour permettre de dissoudre les composés organiques associés au développement du biofilm (l'utilisation de base fortes permet de dissoudre les composés organiques tels que les phospholipides, les polymères...). L'utilisation d'acides permet de dissoudre les dépôts minéraux (tartre, dépôts liés à la corrosion) qui sont des facteurs favorisant le développement du biofilm.
- **Action mécanique :** généralement on met les canalisations sous pression pour permettre d'arracher le biofilm formé.
- **Action de désinfection :** Il est commun d'introduire du chlore ou d'autres agents « sanitaires » dans le système pour éliminer les bactéries.

#### ■ Action chimique

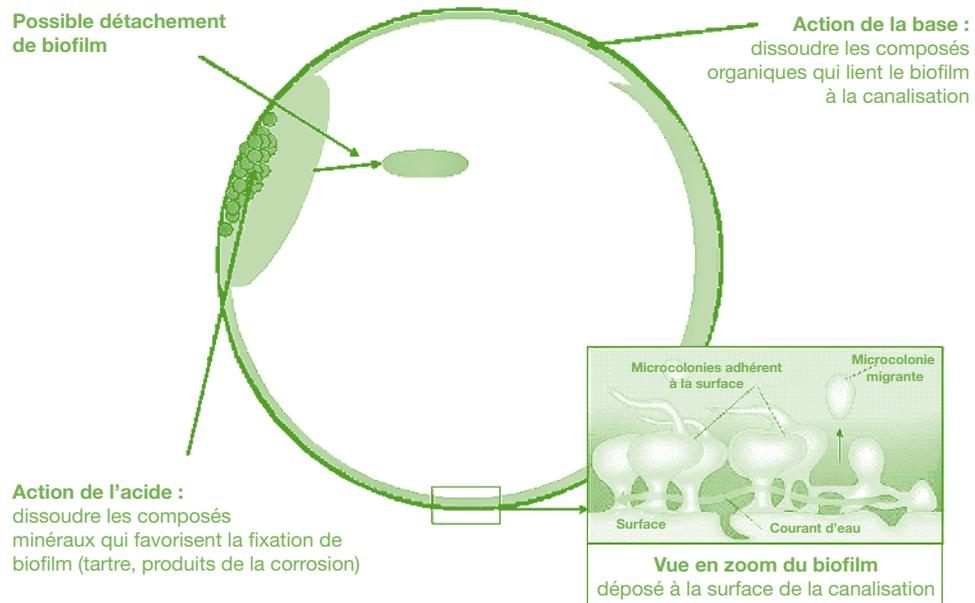
Généralement la méthode la plus employée consiste à appliquer un « choc » ou un « différentiel » de pH pour détacher au mieux le biofilm. Le plus souvent on applique une base forte, puis un produit acide fort. Après un traitement chimique il est fortement recommandé de mettre en œuvre une procédure de rinçage et de

Ces trois actions sont souvent employées de façon complémentaire, soit pendant la période d'élevage, soit pendant le vide sanitaire. Pour éliminer efficacement le biofilm, il convient d'effectuer un nettoyage régulier avec une mise sous pression de 1,5 à 3 bars des canalisations pour le disloquer. Une erreur fréquente, lors de l'utilisation de produits de traitement du biofilm, est de le détacher sans procédure de rinçage et de désinfection des conduites d'eau. Si on détache le biofilm sans l'éliminer par un rinçage et une désinfection, la croissance des microorganismes explose dans les canalisations d'eau.

Plusieurs techniques alternatives ont vu le jour ces dernières années principalement pour réduire les coûts d'opérations d'éradication du biofilm : utilisation de l'électrolyse, stérilisation par rayonnement UV, traitement électromagnétique.

désinfection des conduites d'eau. Si on détache le biofilm sans l'éliminer par un rinçage et une désinfection, la croissance des microorganismes peut de nouveau intervenir dans les canalisations d'eau. L'emploi de l'action chimique se fait principalement lors du vide sanitaire.

**Figure 3 : Mécanismes d'enlèvement du biofilm par traitement chimique**



### ■ Action mécanique

Pour éliminer efficacement le biofilm, il convient d'effectuer un nettoyage régulier avec une mise sous pression de 1,5 à 3 bars des canalisations pour le disloquer. Le nettoyage du dispositif d'abreuvement, au moyen d'un flux de forte pression est recommandé :

- immédiatement après toute intervention ou médication,
- pendant une minute pour chaque 30 m de longueur de tuyau,
- au moins une fois par semaine,
- une fois par jour lorsque les températures sont particulièrement élevées,

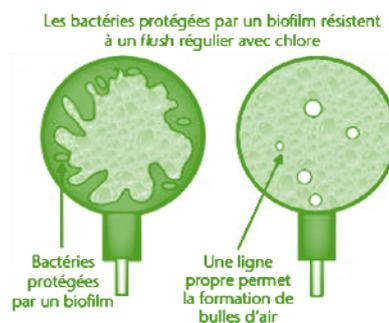
- après l'action de produits chimiques employés lors du vide sanitaire pour laver les canalisations.

De plus, la chaleur augmente la température de l'eau et favorise la colonisation par les microorganismes. Un flux de haute pression prévient la formation du biofilm et remplace l'eau par une eau à température plus froide, moins propice au développement des microorganismes. Il existe des systèmes automatiques de flushing, avec sonde de température, qui déclenchent le flux sous pression dès que la température excède un certain point.

### ■ Emploi de désinfectants

La chloration est une technique très répandue. Toutefois, pendant la période de production, si cette pratique permet de fournir une eau ponctuellement dénuée de pathogènes, elle n'élimine pas les bactéries protégées par le biofilm, et ces dernières sont capables de se re-développer très rapidement (Figure 4). Un produit bien recommandé est le peroxyde d'hydrogène. Lorsqu'utilisé de façon adéquate, le peroxyde d'hydrogène est un agent oxydant puissant. Son action permet de détruire le biofilm à l'intérieur de la conduite.

**Figure 4 : Limites du traitement du biofilm par le chlore (d'après [5]).**



## ■ Electrolyse

Le principe est d'appliquer un courant électrique dans de l'eau enrichie en sel (NaCl). L'électrolyse va produire des oxydants (acide hypochloreux, chlore gazeux, peroxyde d'hydrogène) qui vont être injectés dans les abreuvoirs à hauteur de 2-3 % (dose non toxique pour les animaux et l'éleveur.) L'électrolyse a plusieurs avantages, elle permet de réduire les coûts directs d'ex-

ploitation et de réduire en continue le développement de biofilm. Les limites sont liées à l'encrassement des électrodes surtout si l'eau utilisée est dure, un système d'adoucissement est à prévoir dans ce cas (pour réduire les teneurs en  $\text{Ca}^{2+}$ , mais aussi en Fer et en manganèse).

## ■ Rayonnement UV

Le principe est d'appliquer le rayonnement d'une lampe UV sur une canalisation. Les rayons ultraviolets sont une onde électromagnétique et regroupent des fréquences oscillants entre 10 et 400 nm (10 nm étant la limite des rayons X et 400 nm la limite des radiations visibles). Ces radiations UV ont une action photochimique notamment par la destruction des micro-organismes (pour des longueurs d'onde UV-C comprises entre 200 et 280 nm). L'action stérilisante, est due à la perturbation apportée par les radiations ultraviolettes dans la structure chimique des constituants de la cellule vivante, et par suite, de leur fonctionnement. La courbe d'adsorption de l'ADN (acide désoxyribonucléique), véritable support de l'information génétique

dans le noyau des cellules, pour des longueurs d'onde comprises entre 200 et 285 nm met en évidence un pic à la longueur d'onde de 257 nm, c'est à dire un profond effet germicide à cette longueur d'onde. Suivant la quantité d'énergie UV reçue, la cellule vivante sera soit stérilisée (effet bactériostatique) soit détruite (effet bactéricide). C'est un système de traitement très efficace pour enlever des bactéries d'une eau de boisson potentiellement contaminée mais sa mise en œuvre est beaucoup plus complexe pour lutter contre le biofilm et doit être généralement associée à l'emploi d'un biocide rémanent (chlore ou autre) pour être efficace sur toute la ligne de traitement.

## ■ Traitement électromagnétique des canalisations

Le traitement électromagnétique de l'eau peut avoir une influence sur les biofilms. Il peut éliminer les biofilms existants et éviter de nouvelles adhésions.

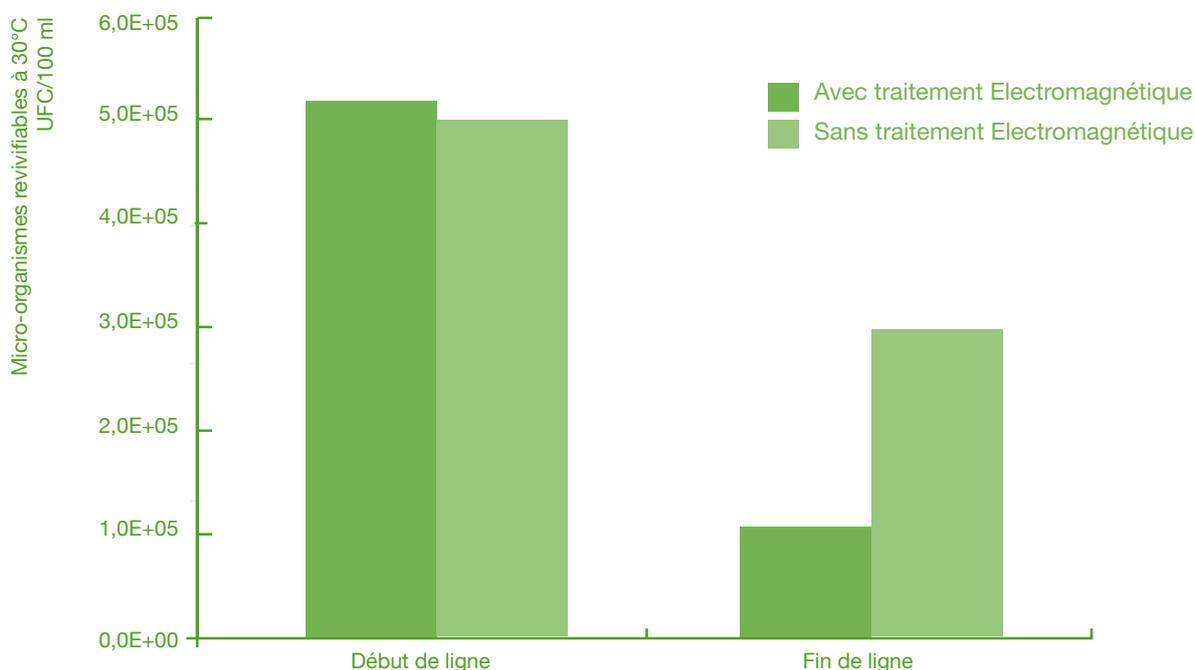
Les mécanismes d'action du traitement électromagnétique des canalisations sont présentés dans l'article du Dr Vétérinaire Valette (traitement électromagnétique de l'eau) dans ce document.

Nous avons effectué une évaluation technique du procédé dans une installation de la Région Bretagne en faisant le suivi de la qualité de l'eau et de la santé des animaux pendant une période de production en 2009 [6]. Ce projet a été effectué conjointement avec le Groupe Chêne Vert. L'efficacité du traitement électromagnétique sur la qualité de l'eau a pu être mesurée à plusieurs

reprises à la sortie de l'abreuvoir (ex. Figure 5).

D'autres résultats sont en cours d'exploitation et une prochaine campagne d'analyse permettra d'avoir un peu plus de recul quant aux performances du procédé électromagnétique.

**Figure 5 : Résultats obtenus en prenant des échantillons au début et à la fin de ligne d'alimentation d'eau dans un poulailler pendant une période de production**



## Conclusion

Les biofilms peuvent affecter les performances des élevages de plusieurs manières : soit par la contamination directe (organismes pathogènes ou matières organiques ingérées par les animaux), soit par colmatage des réseaux d'abreuvoir, soit en réduisant l'efficacité des assainisseurs, des médicaments ou des vaccins administrés dans l'eau. Les méthodes de traitement conventionnelles (purges régulières sous pression et utilisation de base/acide/pression/désinfectant lors du vide sanitaire) permettent d'atteindre des efficacités d'éradication du biofilm satisfaisantes. Toutefois plusieurs techniques émergentes telles que le traitement électromagnétique des eaux permettent de réduire les coûts d'éradication et semblent représenter des solutions très intéressantes.

## Références bibliographiques

- 1 J.W. Costerton et al., Sci. Amer., 238, 86, 1978.
- 2 Daniel VENNE. Biosécurité : Qualité de l'eau et importance du contrôle des biofilms sur les performances des poulets. Bull. Acad. Vét. France - 2009 - Tome 162 - N°3.
- 3 Eau de boisson en élevage avicole un levier majeur de réussite. Réalisation Chambre régionale d'agriculture des Pays de la Loire - Conception D. Benoist - Angers - Edition novembre 2007.
- 4 Loïc Fulbert, Bénédicte Alexandre, « L'eau : une approche globale du captage à l'abreuvoir », RIPPA 2008.
- 5 Caroline Blain « Volaille de qualité et en santé ». AGRI-NOUVELLES Octobre.09.
- 6 Anne-Laure Biang, Florent Chazarenc "Validation scientifique d'un traitement électromagnétique innovant de traitement des boues activées et effet sur le potentiel Zêta", rapport de Master (2009) – Publication en phase de soumission.



## TRAITEMENT ÉLECTROMAGNETIQUE DE L'EAU

### INTERVENANT

**D<sup>r</sup> ès sciences Eric VALETTE**  
PLANET HORIZONS TECHNOLOGIES SA,  
Sierre, Suisse

*Le traitement électromagnétique de l'eau a été longtemps décrié et peu reconnu. Or actuellement grâce à l'apparition d'appareils de plus en plus efficaces, il acquiert une place croissante parmi les technologies de traitement de l'eau. Cet article décrit le contexte scientifique de ce traitement physique puis donne un aperçu de l'influence que peut avoir un traitement électromagnétique sur l'eau de boisson de volaille, notamment à travers la prévention du développement de biofilms dans les conduites et une meilleure maîtrise de la solubilisation des médicaments dissous dans l'eau. Cette nouvelle approche économiquement intéressante et respectueuse de l'environnement a un avenir prometteur et de nouvelles applications suivies par les universités voient aujourd'hui le jour.*

## Introduction

La qualité de l'eau et sa gestion jouent aujourd'hui un rôle majeur dans la performance d'un poulailler et la santé des volailles. Une mauvaise qualité bactériologique peut notamment engendrer des troubles digestifs, une baisse des performances agronomiques, une augmentation de la médication, voire une mortalité excessive.

Les traitements bactériologiques classiquement utilisés sont le dosage du chlore (le plus fréquemment rencontré dans l'élevage), le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de chlore, ou encore l'électrolyse de sel permettant de produire des biocides (chlore ou peroxyde). Ces traitements sont efficaces pour éliminer les bactéries en suspension dans l'eau ou celles en surface des biofilms mais pas pour éliminer complètement les biofilms déjà présents dans les réseaux. De plus, leur utilisation en continu peut poser des problèmes lors des administrations de traitements. En effet, l'adjonction à l'eau de boisson de traitements requiert une qualité d'eau adéquate (pH, teneurs en fer, manganèse, matières organiques, etc.), et exempte de produits oxydants<sup>[1]</sup>. La solubilisation de ces traitements et une perte de ces derniers dans les conduites avant la consommation par la volaille peut aussi poser des soucis.

S'agissant du traitement électromagnétique, il faut reconnaître qu'il a longtemps été décrié, et qu'aujourd'hui encore, les appareils que l'on trouve sur le marché ne sont pas tous sérieux. Force est de constater cependant qu'avec le développement de nouveaux systèmes ces dernières années, de nouvelles applications autres que la seule résolution des problèmes d'entartrage apparaissent avec des efficacités observées et prouvées. C'est le cas notamment pour l'élimination des biofilms et pour une meilleure dissolution des colloïdes et autres éléments dans l'eau comme les traitements pharmaceutiques.

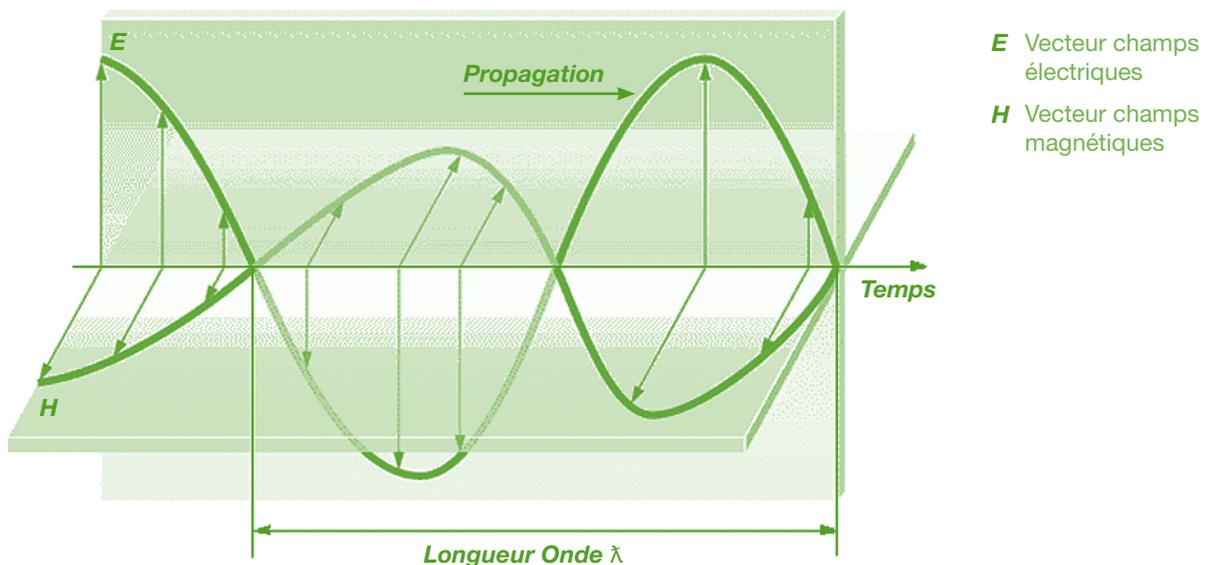
## 1. Contexte scientifique

### ■ Le traitement électromagnétique

Une onde électromagnétique est l'association d'un champ électrique et d'un champ magnétique. Ces deux champs varient dans le temps et se propagent dans

l'espace à la vitesse de la lumière avec leurs composantes distantes de 90° (Figure 1).

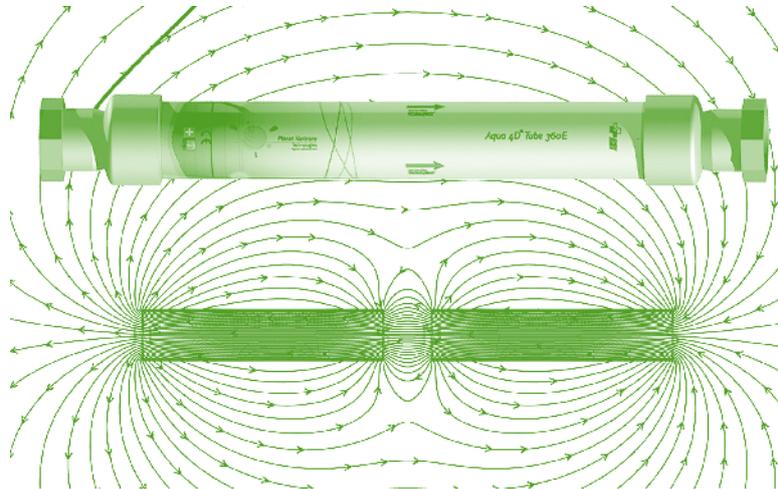
Figure 1 : Modélisation d'une onde électromagnétique



Les traitements physiques les plus efficaces sont constitués de solénoïdes (bobines de cuivre de plu-

sieurs milliers de spires) disposés et isolés à l'intérieur d'un tube (Figure 2).

**Figure 2 : Tube de traitement avec modélisation des champs magnétiques**



L'eau est en contact du champ électromagnétique le plus intense lorsqu'elle se trouve au niveau des solénoïdes. L'action des ondes électromagnétiques se propage à l'intérieur du réseau d'eau tant qu'il n'y a pas de coupure (vanne d'arrêt, réducteur de pression lorsqu'il n'y a pas de débit, etc.). Cela explique l'action d'un traitement électromagnétique sur de longues distances, l'efficacité pouvant être maintenue sur l'ensemble d'un réseau d'eau.

Si nous approfondissons encore un peu plus et étudions la physique quantique, nous constatons qu'il est également important de travailler avec les bonnes fréquences. Car la gamme de fréquence dans l'application d'une onde électromagnétique est presque illimitée et son choix est primordial pour obtenir l'effet désiré. La physique quantique (physique ondulatoire) et notamment des relations d'Einstein et de De Broglie nous ont appris qu'il est possible de calculer les fréquences de résonance de différents éléments (atomes, particules).

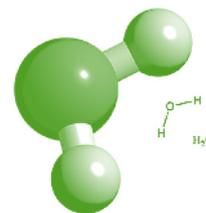
Nous pouvons aussi représenter les choses soit comme des ondes soit comme des particules. Or, il est d'une part possible de calculer les fréquences de résonance de ces particules, et il est d'autre part reconnu que chaque champ électromagnétique a une influence sur son environnement, où le phénomène de résonance joue un rôle majeur et permet à un élément de réagir à un autre même si en termes d'énergie, ces échanges sont extrêmement faibles. Ceci est d'ailleurs correctement décrit dans une publication assez récente (2003) sur une construction mathématique se proposant d'expliquer les mécanismes d'amplification biologique à l'aide d'un modèle utilisant des champs électromagnétiques de l'ordre du picotesla<sup>[2]</sup>.

De même, les bonnes intensités sont décisives. Un champ électromagnétique trop faible n'a presque pas d'effet, un champ trop fort peut provoquer l'effet inverse.

## 2. L'eau

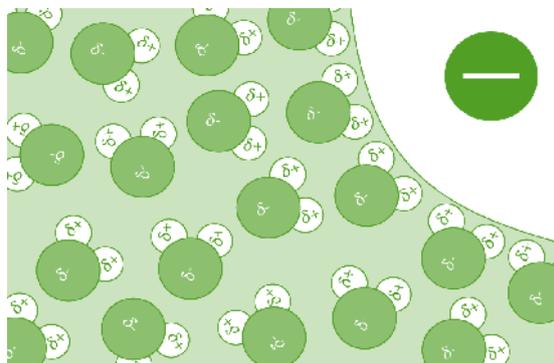
La molécule H<sub>2</sub>O est le plus petit élément constituant de l'eau et a une forme en V. D'un côté du V il y a l'oxygène chargé négativement (en foncé sur la Figure 3), et de l'autre 2 hydrogènes chargés positivement (en clair sur la Figure 3). Cette molécule est donc une molécule dite polaire et possède ainsi des caractéristiques de dipôle. Cette polarité est une propriété extrêmement importante de la molécule d'eau. A une petite échelle cela est similaire à un aimant avec une orientation dépendant des charges environnantes (Figure 4).

**Figure 3**



**Figure 4 : Orientation des molécules d'eau autour d'une charge négative**

Un champ électromagnétique a une influence sur un dipôle. Tous les scientifiques s'accordent aujourd'hui sur le fait que les aimants ou les champs électromagnétiques influencent l'eau. La grande question qui se pose est de savoir quelles sont les conséquences de cette influence et si cette influence est stable dans le temps et avec la distance. La même question se pose aussi pour tout traitement chimique.

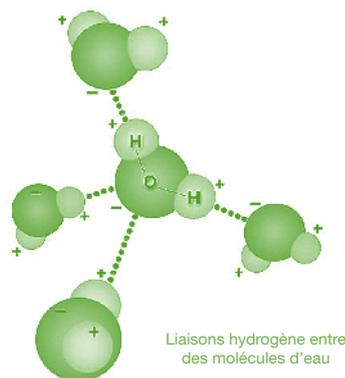


Une autre propriété extrêmement importante de la molécule d'eau est la faculté de créer des liaisons hydrogène. Des liaisons peuvent en effet se former entre les molécules d'eau car ce sont des molécules polaires et les charges de signes contraires s'attirent. Ces liaisons, dues à la polarité, s'établissent entre les atomes d'hydrogène de certaines molécules d'eau et les atomes d'oxygène des molécules d'eau voisines. On les appelle des « liaisons hydrogène » (Figure 5).

Les molécules d'eau s'associent les unes aux autres sous la forme de paquets de grande taille qui se font et se défont en permanence sous l'agitation thermique. Ces groupements de molécules d'eau sont appelés « clusters ». L'eau est le seul liquide à développer un aussi grand nombre de ces liaisons hydrogène qui jouent un rôle extrêmement important en lui conférant des propriétés très particulières. Cette souplesse des architectures moléculaires assemblées par liaisons hydrogène et ces possibilités d'évolution sont indispensables aux molécules biologiques. C'est aussi cette souplesse de la liaison hydrogène et la grande polarité de la

molécule d'eau qui vont, par exemple, permettre à l'eau de construire autour d'un ion un écran de molécules H<sub>2</sub>O souple, résistant et couvrant tout l'espace autour de cet ion. Cet écran empêche cet ion de se combiner à nouveau avec des ions de signe opposé et le maintient « dissous » au sein de l'eau.

**Figure 5**



### 3. Le traitement électromagnétique de l'eau

En quoi tout cela est-il en rapport avec le traitement physique de l'eau?

Ces précédentes propriétés de l'eau sont très importantes et un traitement électromagnétique a une influence directe sur celles-ci. Ce traitement peut conduire à un certain nombre de modifications physiques de l'eau (taille des clusters, orientations des molécules, etc.) ou de modifications dans son comportement avec les autres molécules ou ions présents dans l'eau : capacité de dissolution, interactions électrostatiques (ou ioniques), les interactions de Van Der Waals, les interactions hydrophobes et polaires, etc.

L'eau a une fréquence propre que l'on peut calculer précisément. De même on peut calculer les fréquences propres des éléments les plus importants présents dans l'eau, par exemple le calcium, le magnésium ou l'oxygène. Ces fréquences calculées à partir des relations de la physique quantique se retrouvent bien au-delà des Gigahertz. Il est ensuite possible de travailler

dans une gamme plus basse, certains appareils utilisent par exemple la gamme 0-20 kHz avec le principe de résonance par divisions successives par 2 (ex : en musique, le DO restera un DO quelle que soit son octave).

Pour revenir également de manière imagée sur le principe de résonance, prenons deux cordes, l'une de longueur fixe F, et une autre de longueur variable V, tendue l'une à côté de l'autre. On fait vibrer la corde de longueur F. Celle-ci émet alors une fréquence dont la valeur est inversement proportionnelle à F. Si on fait varier la longueur V de la corde voisine, celle-ci va, pour certaines valeurs repérables de V, se mettre elle aussi à vibrer, par sympathie avec la corde F. On se rend compte que ce phénomène se produit lorsque V est en « rapport simple » avec F. Par exemple, lorsque V vaut F, F/2, ou F/3. Car alors, la fréquence émise par F correspond à une des harmoniques de la fréquence qu'aurait émise V, et V réagit à cette harmonique.

C'est ce phénomène de résonance qui structure la vie

et permet à un élément de réagir à un autre même si en termes d'énergie, ces échanges sont extrêmement faibles, souvent bien en dessous du bruit de fond électromagnétique ambiant.

Cela donne dans son ensemble une structure électromagnétique naturelle et caractéristique à travers l'ensemble des harmoniques et sous-harmoniques induites qui n'est pas visible (de même que pour les ondes radio ou les téléphones portables). Si des fréquences non adaptées sont émises sur l'eau, cette structure d'ondes naturelles est dérangée, ainsi que certaines caractéristiques de l'eau comme le comportement de dissolution (par exemple du calcaire ou certains médicaments). Ceci explique les problèmes avec les systèmes inefficaces, apparus il y a longtemps : avec des aimants posés sur les conduites, les fréquences dépendent complètement de la vitesse de l'écoulement de l'eau. Comme celle-ci varie tout le temps, le pur hasard décide si le système est efficace ou non. C'est la même

chose lorsque des appareils électroniques utilisent le réseau d'électricité de 50 Hz ou d'autres fréquences choisies arbitrairement.

En plus de la notion de fréquence propre, la notion de rapport harmonique est importante concernant ces réseaux électromagnétiques. Par rapport harmonique on entend un rapport entre chiffres entiers entre 2 fréquences (ex : 3/2 ou 4/3). En calculant les fréquences de résonances des éléments naturels on constate qu'ils sont construits dans des rapports harmoniques les uns aux autres. Les plus récents appareils de traitement électromagnétique efficaces utilisent cette approche et travaillent avec 2 fréquences réglées harmoniquement.

Regardons maintenant l'influence d'un traitement électromagnétique sur certaines applications spécifiques telles que l'élimination des biofilms ou la meilleure dissolution de médicaments.

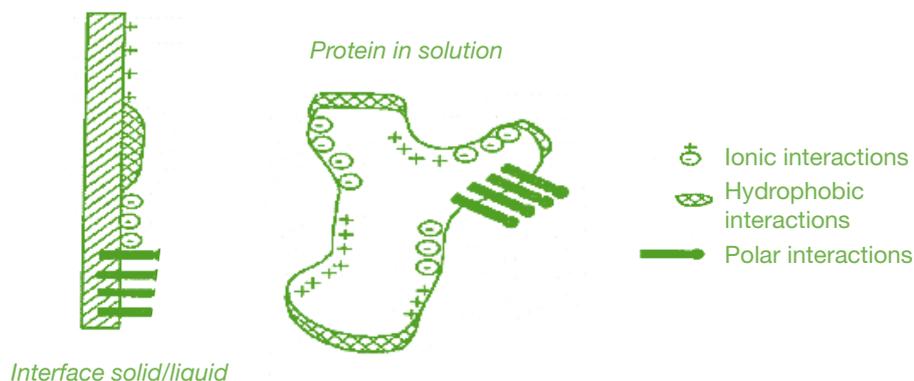
#### 4. Traitement électromagnétique contre les biofilms

Les biofilms sont des structures composées de microorganismes et sont présents dans toutes les eaux, aussi dans les puits et les eaux de ville. Ils sont formés de bactéries, d'algues, de champignons et de protozoaires. Les microorganismes peuplent toutes les surfaces de contact entre l'eau et le récipient concerné. Ils se regroupent pour former des cohabitations très efficaces : les cellules de biofilm se relient via les exopolymères (polymères extra cellulaires) et deviennent ensuite des cultures de biofilm pour éviter de se faire emporter par l'écoulement et coloniser après leur croissance d'autres lieux.

Le traitement électromagnétique de l'eau peut avoir une influence sur les biofilms. Il peut éliminer les biofilms existants et éviter de nouvelles adhésions. Tout d'abord, les effets curatifs et préventifs sur l'entartrage et la prévention de la corrosion due à une eau agressive ou corrosive réduisent les adhésions des micro-organismes sur les surfaces. Ces surfaces sont autant de points de fixation des biofilms (elles sont moins lisses)

et de prolifération en fournissant le substrat nécessaire à leur développement. Ensuite, le traitement électromagnétique a également une influence directe sur le biofilm. Il faut savoir que la complexité du phénomène d'adsorption des protéines (constituant les micro-organismes) est largement reliée à l'hétérogénéité de la structure de la protéine et de celle des surfaces adsorbantes (métal, verre, PVC, etc.). Cette hétérogénéité peut engendrer des interactions de natures diverses qui sont liées à la présence sur la surface du matériau et de la protéine, de domaines hydrophobes, polaires ou chargés (Figure 6).

Figure 6



Les types d'interactions généralement développés entre les protéines et la surface sont : les interactions électrostatiques (ou ioniques), les interactions de Van Der Waals, les liaisons hydrogènes, les interactions hydrophobes et polaires, sur lesquels le traitement électromagnétique peut agir et éviter ainsi l'adhésion du biofilm sur les conduites. Certains de ces mécanismes comme la réduction de la barrière de potentiel Zêta via l'utilisation d'un traitement électromagnétique ont déjà été prouvés (travail de master de l'Ecole des Mines de Nantes<sup>[3]</sup>). Il reste cependant encore pas mal de recherche fondamentale à réaliser dans ce domaine afin de connaître précisément les mécanismes prépondérants

dans la suppression des biofilms observés dans la pratique. Il a aussi été démontré que le traitement électromagnétique n'avait pas un effet directement biocide. L'intérêt d'éliminer des biofilms ou d'éviter leur développement est majeur mais il faut aussi souligner le rôle complémentaire des biocides comme le chlore lorsqu'il s'agit de tuer des bactéries présentes dans l'eau. Un biocide va tuer les bactéries en suspension dans l'eau et celles en surface des biofilms mais ne va pas permettre de supprimer le biofilm. Le traitement électromagnétique va pouvoir éliminer les biofilms existants et empêcher de nouvelles adhésions, mais il n'aura pas un effet directement létal sur les bactéries.

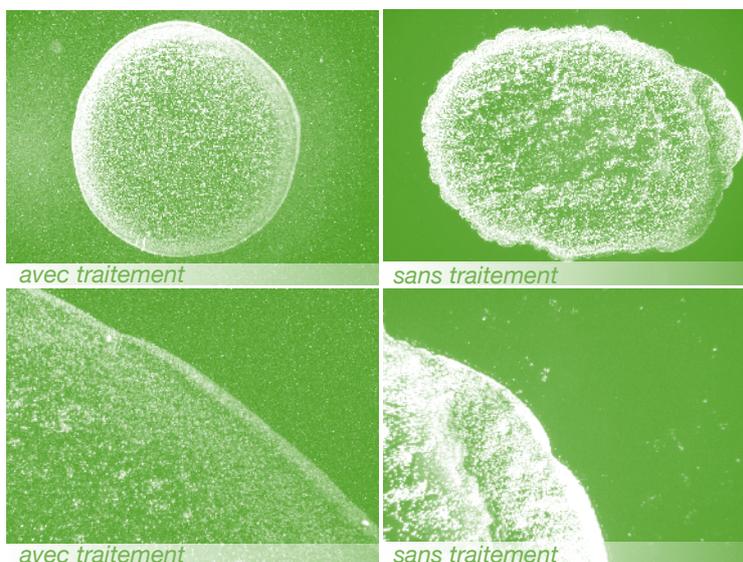
## 5. Traitement électromagnétique pour une meilleure dissolution des médicaments dans l'eau

Dans un certain nombre de domaines il a déjà été prouvé que le traitement électromagnétique pouvait améliorer la dissolution de produits de traitement comme c'est le cas des engrais dans l'irrigation par exemple, ou encore du calcaire dans l'eau. Il a par ailleurs déjà été démontré de façon reproductible une action des champs électromagnétiques de basses fréquences sur des solutions aqueuses par dissolution des « colloïdes naturels »<sup>[4, 5 et 6]</sup>. Ces travaux récents (2005 et 2006) valident les hypothèses des chercheurs américains Colic et Morse<sup>[7]</sup> ainsi que le travail d'une équipe italienne<sup>[8]</sup>. Les résultats des deux équipes avaient suggérés que les champs électromagnétiques ont une action sur l'interface gaz/eau, les nano-bulles de gaz faisant partie des « colloïdes naturels ».

Cela est difficile à mettre en évidence car les qualités chimiques de l'eau ne sont pas modifiées, il s'agit seulement de modifications de sa qualité physique, de la

structure et de la répartition des éléments dans l'eau. Certaines techniques relativement simples permettent tout de même d'observer ces différences comme l'analyse microscopique. Le principe consiste à déposer de fines gouttes d'eau sur un porte-objet, de laisser évaporer ces gouttes puis d'observer la disposition des éléments déposés avec un microscope. La figure 8 donne un exemple de cela. Il s'agit d'une eau à laquelle a été rajouté un traitement antibiotique Aviapen (Pénicilline). Aviapen est une poudre de couleur blanche, le dosage réalisé est de 0.5 g/l. Les photos montrent une goutte d'eau évaporée de cette solution avec et sans traitement électromagnétique, la qualité chimique de l'eau est identique, seule sa qualité « physique » a été modifiée via le traitement électromagnétique et les différences sont nettes.

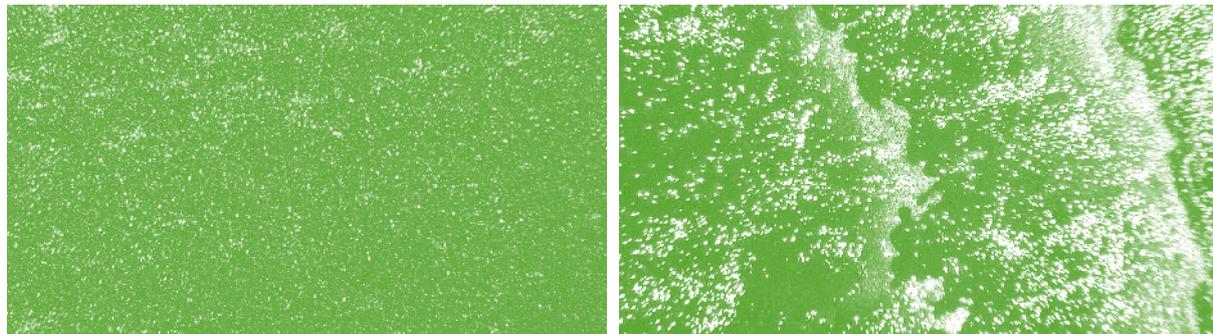
**Figure 8 : Analyse microscopique d'une goutte d'eau avec traitement Aviapen sans traitement électromagnétique (droite) et avec traitement (gauche)**



Les contours de la goutte de référence sont nettement moins réguliers et concentriques que ceux de la goutte traitée. Des dépôts grossiers apparaissent sur les bords et la répartition des éléments (principalement calcaire et Aviapen) est nettement moins homogène que dans le cas de l'échantillon traité. Nous l'observons plus

précisément sur les agrandissements de ces gouttes (Figure 9), mais nous voyons déjà clairement que le traitement électromagnétique permet une meilleure dissolution et dispersion des éléments contenus dans l'eau, notamment l'antibiotique utilisé.

**Figure 9**



Sur l'agrandissement des bords nous constatons des dépôts plus grossiers et importants dans l'échantillon de référence alors qu'ils sont en moins grand nombre et plus fins dans l'échantillon traité. De la même manière

ces éléments sont dispersés de manière plus fine et homogène au centre de la goutte traitée en comparaison de celle de référence.

## Conclusion

Bien que toujours sujet à discussion les systèmes de traitement électromagnétique de l'eau se développent aujourd'hui de plus en plus. Ces nouveaux systèmes doivent remplir un certain nombre de conditions afin de garantir un bon traitement et une bonne efficacité. Les appareils encore existants sur le marché n'offrent pas tous une garantie de bon fonctionnement. Il est pour cela nécessaire de bien se renseigner sur la technologie proposée et sur la crédibilité de l'entreprise qui les fabrique mais des systèmes réellement efficaces existent

aujourd'hui. Plusieurs centaines d'appareils ont déjà été installés de par le monde dans le domaine de l'élevage. Outre l'élimination des biofilms et la meilleure dissolution des médicaments, ils permettent également d'éviter les colmatages causés par le calcaire, le fer ou le manganèse. Le monde académique montre également aujourd'hui un intérêt croissant pour cette technologie respectueuse de l'environnement, présentant un très faible coût énergétique, et avec un fort potentiel.

## Références bibliographiques

- 1 Loïc Fulbert, Bénédicte Alexandre, « L'eau : une approche globale du captage à l'abreuvoir », RIPPA 2008.
- 2 Anjali Saxena, Jerry Jacobson, William Yamanashi, Benjamin Scherlag, John Lamberth, Brij Saxena, « A hypothetical mathematical construct explaining the mechanism of biological amplification in an experimental model utilizing picoTesla (PT) electromagnetic fields », *Medical Hypotheses*, vol.60(6), 821-839, (2003).
- 3 Anne-Laure Biang, Florent Chazarenc « Validation scientifique d'un traitement électromagnétique innovant de traitement des boues activées et effet sur le potentiel Zéta », rapport de Master (2009) – Publication en phase de soumission.
- 4 Philippe Vallée et al., « Effects of pulsed low frequency electromagnetic fields on water characterized by light scattering techniques: role of bubble », *Langmuir* 21(6), 2293-9, (2005a).
- 5 Philippe Vallée et al., « Effects of pulsed low frequency electromagnetic fields on water using photoluminescence spectroscopy: role of bubble/water interface », *J. Chem. Phys.* 122(11), 114513-1-8, (2005b).
- 6 Philippe Vallée, « Action of pulsed low frequency electromagnetic fields on physicochemical properties of water: incidence on its biological activity », *European Journal of Water Quality* 37(2), 221-32, (2006).
- 7 Miroslav Colic and Dwain Morse, « Influence of Resonant RF Radiation on Gas/Liquid Interface: Can It Be a Quantum Vacuum Radiation? » *Phys. Rev. Lett.* 80(11), 2465-8, (1998).
- 8 D. T. Beruto et al., « Interfacial effect of extremely low frequency electromagnetic fields (EM-ELF) on the vaporization step of carbon dioxide from aqueous solutions of body simulated fluid (SBF) », *Bioelectromagnetics* 24(4), 251-61, (2003).



## Nouvelles approches pour la détermination du pouvoir pathogène des colibacilles aviaires

### INTERVENANT

*D<sup>r</sup> ès sciences Pierre-Yves MOALIC*  
LABOFARM, Loudéac, France

*Certaines souches d'E. coli sont à l'origine de colibacilloses aviaires, entraînant de lourdes pertes économiques en élevage. Il apparaît donc comme très important aujourd'hui pour les laboratoires d'analyses, de disposer d'outils prédictifs du pouvoir pathogène des souches isolées. Dans cette optique, Labofarm a développé des tests PCR permettant la mise en évidence de 11 facteurs de virulence. Une pré-étude portant sur 45 souches isolées de septicémie a mis en évidence que 100 % des souches étudiées portent au moins 4 gènes codant pour ces facteurs de virulence et que la majorité d'entre elles portent 7-8 gènes de virulence. La fréquence de ces gènes varie entre 100 % et 4.4 % des isolats analysés. La virulence des souches responsables de colibacilloses aviaires ne semble donc pas liée à un seul gène ou à une catégorie de gène, mais semble résulter d'une combinaison de plusieurs déterminants. Des travaux sont en cours qui visent à mettre en relation les profils de virulence et la clinique observée sur le terrain et à étudier les profils génétiques des souches isolées de l'environnement des élevages avicoles.*

## Introduction

*E. coli* est un hôte familier du tube digestif des mammifères et des oiseaux. Il est également très présent dans l'environnement et notamment celui des productions avicoles. Ces bactéries colonisent en général l'épithélium intestinal et sont donc, dans la plupart des cas, non pathogènes pour l'hôte. Dans certains cas, immunosuppression ou lésion de la barrière intestinale, ces bactéries peuvent être à l'origine d'infections.

Il existe en revanche une minorité de souches de colibacilles qui porte des déterminants de virulence et qui se révèle intrinsèquement pathogène pour l'organisme. Neter et coll. en 1965 ont divisé ces souches en isolats à tropisme intestinal et isolats à tropisme extra intestinal, lui-même subdivisé en souches pathogènes pour le tractus urinaire, la mamelle ou en souches invasives responsables d'infections de type systémique (Mainilet coll., 2004). Les souches responsables de colibacillose aviaires (APEC) sont de nature extra intestinale et sont à l'origine d'aérosacculites ou de septicémies et conduisent à des pertes économiques importantes. La sensibilité de l'hôte aux APEC peut être exacerbée à la suite d'une infection bactérienne (mycoplasme) ou virale (BI, Newcastle) qui entraîne une déciliation partielle ou totale de l'épithélium respiratoire. De plus, l'exposition à l'ammoniac et à la poussière de l'élevage favorise le processus infectieux (Nakasato et coll, 2009).

Ce dernier peut se décliner en 4 étapes :

- la colonisation de la muqueuse,
- le franchissement de cette muqueuse,
- la résistance au système immunitaire,
- l'induction d'un effet toxique.

Chacune de ces étapes nécessite la mise en œuvre d'un ou plusieurs facteurs de virulence, sachant que les souches ne possèdent pas forcément l'équipement génétique permettant la réalisation de ces 4 étapes. Les facteurs de virulence qu'elles portent déterminent ainsi leurs voies d'entrée dans l'organisme (trachée, intestin) la persistance dans le sang ou les organes profonds ainsi que le mode de pathogénicité (Mainil et coll., 2004).

Il apparaît alors très important, compte tenu du caractère ubiquiste des colibacilles aviaires, d'être capable de mettre en place, au laboratoire d'analyse, des outils prédictifs de la pathogénicité des souches isolées sur les volailles ou dans l'environnement des élevages avicoles.

## 1. Limite des tests phénotypiques

La visualisation du caractère hémolytique d'une colonie ou le sérotypage sont des opérations couramment réalisées au laboratoire. Le sérotypage permet de grouper les souches sur la base de l'identification de l'antigène somatique O. De ce fait, certains sérogroupe ont été plus particulièrement associés aux souches APEC : O1, O2, et O78. (Dozois et coll 1992). D'autres sérotypes émergents sont également impliqués en tant qu'APEC (O18, O35, O88, O109 et O115) La plupart des labora-

toires ne possède qu'une partie des sérums permettant l'identification de ces colibacilles et un résultat « *E. coli* non typable » traduit en fait un colibacille non O1-non O2-non O78. La détermination du sérogroupe ou les autres tests phénotypiques existants sont des outils simples et peu coûteux à mettre en œuvre ; s'ils ne renseignent pas sur le pouvoir pathogène prédictif de la souche, ils restent cependant très informatifs au niveau épidémiologique.

## 2. Les tests génétiques

La mise en évidence de gènes codant pour des facteurs de virulence par PCR permet d'affiner les connaissances sur le pouvoir pathogène des souches APEC. Les différentes étapes du processus infectieux telles qu'elles ont été décrites précédemment, mettent en œu-

vre un ou plusieurs facteurs de virulence. Ceux ci peuvent être divisés en 4 groupes : les adhésines et facteurs d'attachement, les toxines, les systèmes de captation du fer et les facteurs de résistance au sérum.

- Parmi les **adhésines**, le fimbriae de type 1 (ou F1) est le plus connu. Il est détecté plus fréquemment chez les APEC que chez les souches de l'environnement. S'il n'est pas essentiel pour la colonisation de la trachée ou des sacs aériens, il peut être en revanche requis pour la colonisation des poumons. Cependant son pouvoir pathogène en tant que tel est mal élucidé (Nakasato et coll, 2009). Lorsqu'il se trouve associé au fimbriae P (présent chez 20 à 25 % des APEC), il protège les bactéries contre la phagocytose. D'autres fimbriae (Afa, F17) peuvent également être rencontrés (Mainil et coll, 2004). Selon différentes études, le gène tsh, qui code pour une hémagglutinine thermosensible serait présent chez 20 à 25 % des APEC et moins de 10 % des souches commensales (Nakasato et coll, 2009).
- La production de **toxines** (LT, VT, CNF) ne semble pas être un facteur de virulence majeur (Blanco et coll, 1997, Dho-Moulin et coll, 1999). En revanche, la production de colicine est détectée chez 75 % des souches septicémiques contre 58 % des isolats fécaux (Blanco et coll, 1997)
- Parmi les **systèmes de captation du fer**, le plus connu est certainement l'aérobactine. Il a été démontré que les souches APEC exprimaient des sidérophores alors que les souches non pathogènes ne le faisaient pas. (Emery et coll, 1992, Silveira et coll, 2002). C'est le cas par exemple des sidérophores irp2 et iucA.
- Le facteur iss permet d'augmenter la **résistance de la bactérie au sérum**. Il est associé aux souches isolées de septicémies.

Il n'est pas toujours aisé de faire le lien entre la présence d'un gène et son expression *in vivo*. De plus, certains facteurs de virulence peuvent être codés par plusieurs gènes et l'absence d'un de ces gènes ne signifie pas forcément l'absence de caractère phénotypique (Gomis et coll, 2001).

Cependant la PCR, par la mise en évidence d'un ou plusieurs gènes codant pour des déterminants de virulence permet de se faire une idée sur le potentiel pathogène de la souche isolée au laboratoire.

### 3. Recherche de Facteurs de Virulence par PCR sur des souches isolées d'élevages avicoles

Labofarm a mis en place fin 2009 un test PCR ciblant 11 facteurs de virulence. Le choix de ces gènes a été fait suite à une étude bibliographique mettant en évidence la pertinence de ces cibles (Ewers et coll, 2005 ; Jonhson et coll, 2008 ; Rodriguez-Siek et coll, 2005). Les souches analysées ont été isolées à partir de lésions

internes ou de septicémies. La majorité des souches appartiennent au sérotype O78 ; puis viennent les sérotypes O1, O2 et des souches « nonO78-nonO1-nonO2 ». Un total de 45 souches a pour le moment été analysé. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 1.

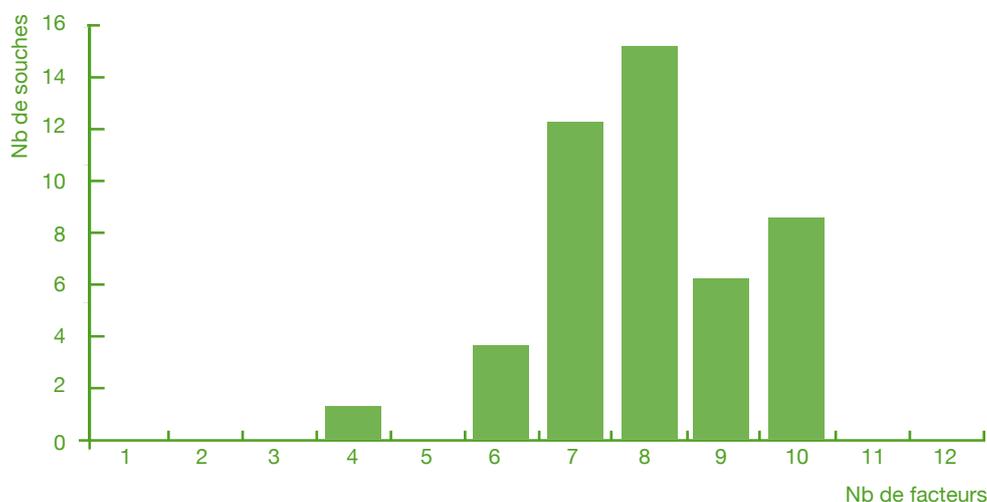
**Tableau 1 : Prévalence des différents facteurs de virulence détectés par PCR**

Nom du Gène	Cible	%
ompT	Gène protéase membrane interne	100
iroN	Récepteur sidérophore chalmodéline	97.7
iss	Facteur de survie dans le sérum	97.7
hlyF	Hémolysine aviaire	95.5
iucD	Aérobactine	82.2
irp2	Yersiniobactine	62.2
cvi	Plasmide colicin V	62.2
tsh	Hemagglutinine thermo sensible	53.3
vat	Toxine de vacuolisation	22.2
astA	Toxine thermostable enteroaggrégative	15.5
papC	Fimbriae P	4.4

Certains facteurs de virulence sont rencontrés chez 95-100 % des souches analysées (iroN, Ompt, iss, hlyF...). Ces facteurs semblent de bons indicateurs de souches APEC. Un deuxième groupe de facteurs de virulence

est présent chez 62 à 53 % des isolats APEC. Enfin, les gènes codant pour la toxine de vacuolisation, la toxine enteroaggrégative et le fimbriae P semblent beaucoup moins présents.

**Graphique 1 : Nombre de facteurs de virulence portés par les souches APEC**



Le graphique 1 présente la répartition du nombre de facteurs de virulence sur la population de souches étudiée. Tous les isolats possèdent au minimum 4 facteurs de virulence. La majorité des souches portent entre 7 et 8 gènes codant pour des facteurs de virulence.

La combinaison de la nature et du nombre de facteurs de virulence semble donc un bon indicateur du potentiel virulent des souches de colibacilles aviaires et apporte des indications complémentaires à celles générées par le sérotypage.

## Conclusion

Ces premiers résultats montrent que ce n'est pas un seul gène qui fait la virulence d'une souche mais la combinaison de plusieurs gènes. L'apport de la PCR dans ce domaine permet une étude plus fine de ces déterminants et donne une approche prédictive de l'implication des souches isolées au laboratoire, dans le processus infectieux.

Cette étude n'est qu'une première étape vers une meilleure compréhension des colibacilloses. Des travaux doivent notamment être menés pour comparer les profils de gènes de virulence sur des souches commensales des oiseaux ou des souches isolées de l'environnement des élevages de volailles.

## Références bibliographiques

- 1 Blanco et coll, 1997, J Clin Microbiol.
- 2 Dho-Moulin, 1999, Vet Research
- 3 Dozois et coll, 1992, Infect. Immun.
- 4 Emery et coll, 1992, Av. Dis
- 5 Ewers et coll, 2005, Av. Dis.
- 6 Gomis et coll, 2001, Can. J. Vet. Research
- 7 Jonhson et coll, 2008, J Clin Microbiol
- 8 Mainil et coll, 2004, Ann. Med. Vet
- 9 Nakasato, 2009, Pesq. Vet. Bras.
- 10 Rodriguez-Siek et coll, 2005, Vet Research
- 11 Silveira et coll, 2002, Vet Microbiol.



Sujet 20

**Sujet 20**

## **Mécanismes de résistance aux antibiotiques et lecture interprétative des antibiogrammes**

### **INTERVENANTS**

**Jean Louis PINSARD**  
**Damien MARTIN**  
FINALAB BIO CHÊNE VERT,  
Châteaubourg, France

Retrouvez l'intégralité du texte sur le site [www.rippa.fr](http://www.rippa.fr)





## **Bien-être des poulets de chair**

### **Application de la directive et réalité de l'élevage**

#### **INTERVENANTS**

**François MERLET**

CRAPL-ITAVI, Angers, France

François Merlet<sup>(1)</sup>,<sup>(2)</sup> et Laure Bignon<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Chambre Régionale d'Agriculture  
des Pays de la Loire

<sup>(2)</sup> ITAVI

*La directive européenne sur le bien-être du poulet de chair (2007/43/CE) établit des normes minimales de protection des animaux dans les élevages (logement, alimentation, soins adaptés aux besoins physiologiques et éthologiques). Elle impose une densité maximale d'élevage à un instant donné de 33 kg/m<sup>2</sup> et l'éleveur peut, s'il respecte des exigences supplémentaires, élever ses animaux jusqu'à des densités de 39 kg/m<sup>2</sup> ou 42 kg/m<sup>2</sup> maximum. Ce texte doit être transposé dans le droit des Etats Membres avant le 30 juin 2010.*

## Introduction

*La directive 2007/43/CE sur la protection des poulets de chair impose une densité maximale d'élevage à un instant donné de 33 kg/m<sup>2</sup>. Cette densité maximale d'élevage est calculée à partir du poids vif de tous les animaux présents simultanément dans le poulailler et de la surface disponible pour la vie des animaux. L'éleveur peut, s'il respecte un certain nombre d'exigences supplémentaires décrites ci-dessous, élever ses animaux jusqu'à des densités de 39 kg/m<sup>2</sup> ou 42 kg/m<sup>2</sup> maximum. Ce texte doit être transposé dans le droit des Etats Membres avant le 30 juin 2010. Il ne s'applique pas aux élevages de moins de 500 poulets, aux élevages de reproducteurs, aux couvoirs, aux élevages extensifs, plein air et biologiques.*

*Sur les considérations de densité, pour l'élevage conventionnel et les lots à un seul enlèvement, aujourd'hui, la réalité du terrain est la suivante : 6 % ont une densité inférieure à 33 kg/m<sup>2</sup>, 60 % dépassent 39 kg/m<sup>2</sup> dont 20 % sont même au-delà des 42 kg/m<sup>2</sup>. Les élevages qui pratiquent les enlèvements multiples ont des densités instantanées maximales inférieures à ces chiffres et seront donc moins contraints par le texte de directive.*

### **Pour tous les éleveurs, y compris ceux dont la densité ne dépassera pas 33 kg/m<sup>2</sup>, les annexes I, III et IV de la directive s'appliquent.**

L'annexe I impose :

- La tenue de registre pour chaque poulailler, dans lequel figurent le nombre de poulets introduits, la surface utilisable, la souche de poulets, la mortalité (nombre de morts et causes, nombre d'éliminés et causes) et le nombre de poulets restants suite à un enlèvement pour la vente directe ou l'abattage. Ces registres doivent être conservés 3 ans.
- Les animaux doivent disposer d'une litière sèche et friable, la ventilation et le chauffage sont gérés de façon à limiter les températures trop élevées et l'excès d'humidité.
- Suite à l'inspection biquotidienne, les animaux souffrant de troubles locomoteurs ou autres, doivent être immédiatement éliminés ou soignés.
- Les abreuvoirs sont conçus de façon à limiter le gaspillage d'eau sur la litière. Les animaux ne peuvent être privés de nourriture plus de 12 heures avant l'heure d'abattage prévue.
- Le niveau sonore doit être réduit au minimum.
- Entre 2 bandes de poulets, un nettoyage désinfection et un vide sanitaire doivent être pratiqués et la litière est enlevée avant introduction d'une litière propre.
- Les interventions chirurgicales sont interdites sauf l'époinçage avant 10 jours d'âge, réalisé sur avis vétérinaire et le chaponnage sous contrôle vétérinaire.

- Les seules obligations chiffrées à ce niveau du texte réglementaire concernent la lumière. En effet, le programme lumineux comprend au minimum 6 heures de coupure dont 4 heures ininterrompues et l'intensité lumineuse doit être de 20 lux minimum sur 80 % de la surface du poulailler, à partir de 7 jours d'âge des animaux et jusqu'à 3 jours avant l'abattage.

L'annexe III du texte prévoit une inspection post-mortem de tous les lots afin de dépister une éventuelle carence en bien-être des animaux à l'élevage. De plus, la transmission à l'abattoir du taux de mortalité du lot y est obligatoire. Ces exigences deviennent contraignantes lorsque l'éleveur souhaite augmenter son chargement, ce qui nécessite une demande de dérogation. Les éléments relatifs à ces dérogations sont explicités plus loin.

L'annexe IV liste les points devant figurer au programme de la formation dispensée aux éleveurs dont l'expérience n'aura pas été reconnue. En effet, la directive prévoit que seuls les éleveurs ayant reçu une formation suffisante ou ayant une expérience équivalente, attestée par un certificat délivré par l'autorité compétente, pourront exploiter.

### **Sous réserve du respect d'obligations supplémentaires, définies à l'annexe II de la directive, une densité instantanée de 39 kg/m<sup>2</sup> peut-être autorisée.**

Pour cela, la directive prévoit l'information de l'autorité compétente de la volonté d'élever les animaux au delà de 33 kg/m<sup>2</sup> au moins 15 jours avant la mise en place des animaux.

L'éleveur doit conserver, accessible, un plan détaillé du poulailler, des informations sur les systèmes de ventilation, climatisation, chauffage et les paramètres de qualité de l'air visés (débit d'air, vitesse et température)

ainsi que des informations sur les systèmes d'abreuvement, d'alimentation et d'alarme. La localisation des différents systèmes doit être connue et documentée. Le type de revêtement de sol du bâtiment est renseigné sur les documents d'élevage ainsi que la litière couramment utilisée.

Des normes d'ambiance chiffrées sont également imposées dans cette annexe II :

- En cas de température extérieure supérieure à 30°C, la température à l'intérieur du poulailler doit être inférieure à la température extérieure augmentée de 3°C.
- En cas de température extérieure inférieure à 10°C, la moyenne sur 48 heures de l'humidité relative à l'intérieur du bâtiment doit être inférieure à 70 %.
- Par ailleurs, les systèmes de ventilation, chauffage et climatisation doivent permettre une concentration en ammoniac, mesurée à hauteur des animaux dans le bâtiment, inférieure à 20 ppm et une concentration en dioxyde de carbone inférieure à 3000 ppm.

Lors d'un suivi d'élevages réalisé par l'ITAVI et les Chambres d'Agriculture des Pays de la Loire et Bretagne de mai à août 2009 (5 éleveurs avec 2 bâtiments identiques Colorado, 12 bandes suivies), les normes de températures ont été respectées sur la période considérée (mai à août). Bien que peu de températures inférieures à 10°C n'aient été relevées sur cette période, il peut être noté que les 70 % d'hygrométrie en moyenne sur 48 heures ont été atteints, surtout en fin d'élevage.

Ce point sera donc à surveiller attentivement par les éleveurs. Concernant les gaz, aucun dépassement de la concentration maximale requise en dioxyde de carbone n'a été relevé sur les 12 bandes suivies. L'ammoniac dépasse la norme requise à 4 semaines d'âge des animaux dans 1 lot suivi sur 12 (8 %) et dans 2 cas sur 6 (33 %) en fin d'élevage.

Il convient d'être prudent car les mesures ont été prises à 10 heures le matin, en été, période durant laquelle la teneur en gaz n'est pas la plus forte.

De plus, les bâtiments suivis lors de cette étude étaient des Colorados, à ventilation dynamique. L'étude effectuée semble montrer que la bonne gestion du couple ventilation/chauffage est nécessaire afin d'élever les animaux au-delà de la densité de 33 kg/m<sup>2</sup>, conformément aux obligations de la directive. Toutefois, les problèmes les plus importants en termes de respect des contraintes de température et d'hygrométrie sont à attendre des bâtiments statiques non équipés de dispositifs de lutte contre les coups de chaleur.

### Enfin, les exigences requises pour obtenir la densité maximum de 42 kg/m<sup>2</sup> sont les plus contraignantes (annexe V).

En effet, aux obligations décrites ci-dessus, s'ajoutent d'autres contraintes supplémentaires. De nombreux pays européens, dont la France, s'interrogent sur la transposition qui en sera faite car ces exigences soulèvent de nombreux problèmes.

Pour prétendre atteindre 42 kg/m<sup>2</sup>, la directive impose une conformité totale aux obligations du texte pendant 2 ans et le suivi d'un guide de bonnes pratiques permettant le respect des dispositions de la directive bien-être. Le taux de mortalité journalier cumulé (somme sur la période d'élevage du nombre de poulets morts par jour divisé par le nombre total de poulets présents

dans le poulailler ce jour), transmis dans tous les cas à l'abattoir (annexe III) doit être inférieur à un seuil calculé en fonction de l'âge d'abattage en jours du lot (1 % + 0,06 % x âge en jours des poulets), sur 7 bandes consécutives.

Par exemple, d'après l'enquête des chambres d'agriculture du grand ouest 2007/2008, le seuil pour les poulets export abattus à 36 jours est de 3,16 % alors que la moyenne relevée dans l'enquête pour cette production est de 4,1 %. Selon cette même enquête, 63 % des lots n'auraient pas pu prétendre à une densité supérieure à 39 kg/m<sup>2</sup> (cf. tableau 1).

**Tableau 1 : Calcul des seuils de mortalité et estimation des lots ne pouvant prétendre à la densité maximum selon la directive**

Type de production	Seuil calculé	Mortalité moyenne de l'enquête	% lots obligés de rester à 39 kg/m <sup>2</sup>
Poulet export (36 j)	3,16 %	4,1 %	63 %
Poulet standard (41 j)	3,46 %	4,2 %	50 %
Poulet lourd sexé (51j)	4,06 %	4,2 %	52 %

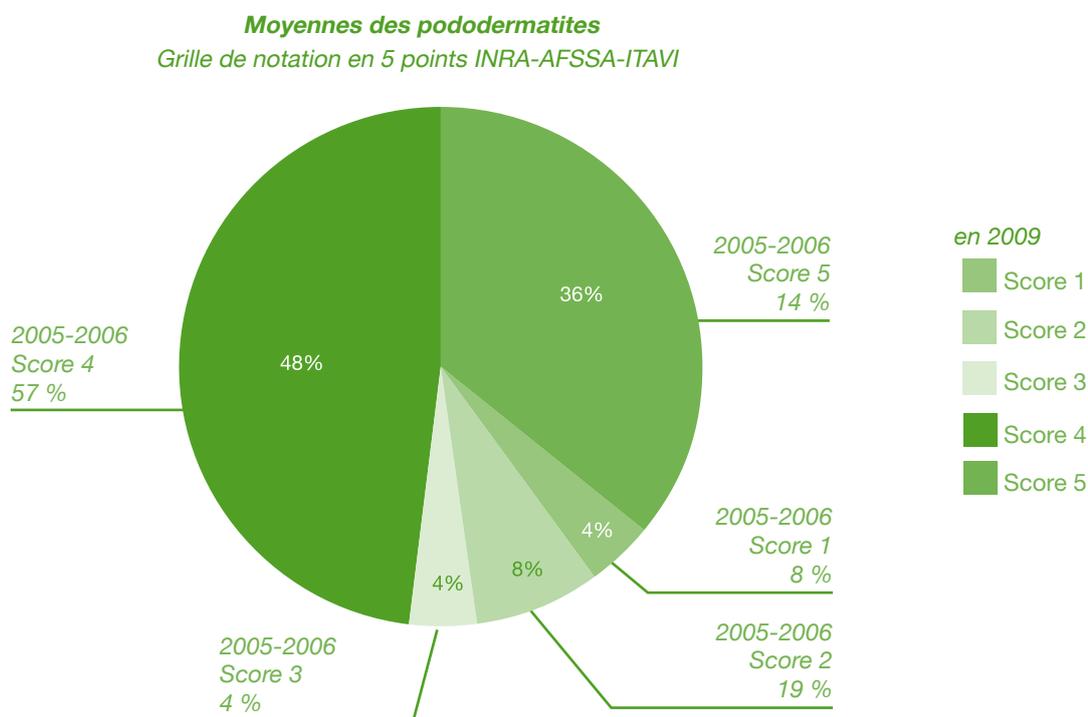
La mortalité devant être inférieure au seuil fixé par la directive pendant 7 lots consécutifs, le nombre d'éleveurs qui pourrait, en France, obtenir les 3 kg supplémentaires de densité serait donc restreint. En poulet export, par exemple (voir tableau 1), comme 47 % seulement de la totalité des lots présentent une mortalité conforme, le nombre d'éleveurs en-deçà du seuil réglementaire sur 7 lots sera bien inférieur. Une clause de circonstances exceptionnelles est cependant prévue pour éviter qu'un seul accident sur 7 lots ne pénalise un éleveur alors que cette mortalité n'est pas de sa responsabilité.

En cas de carence avérée du bien-être des animaux à l'élevage, détectée lors du contrôle post-mortem à l'abattoir (annexe III), les éleveurs ne pourraient accéder à la densité de 42 kg/m<sup>2</sup>. Aujourd'hui, le texte est peu précis sur les critères à observer et sur les niveaux

acceptables ou non de certains « indicateurs de bien-être ». Il évoque des niveaux anormaux de dermatites de contact, de parasitisme ou de maladies systémiques. Lors des discussions à l'échelle européenne de cette directive, le premier critère évoqué était la surveillance de la prévalence de pododermatites, système mis en place en Suède depuis la fin des années 1990. Ce critère précis a été abandonné au profit de la formulation plus large présente aujourd'hui.

L'observation de 46 lots, réalisée en France courant de l'été 2009, montre que la prévalence des pododermatites graves (ulcères) s'élève à 84 %. En 2005-2006, un même type d'étude, réalisée sur un an et 55 lots, montrait 71 % de prévalence des lésions graves. Aucune amélioration n'est donc enregistrée pour ces lésions (cf. Figure 1).

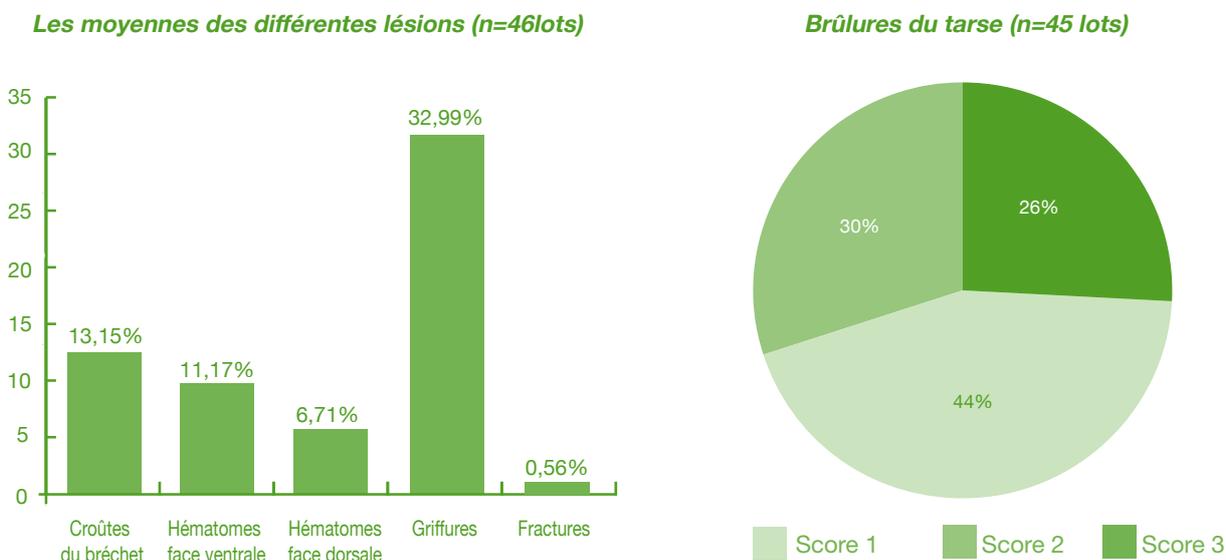
**Figure 1 : Répartition des scores de pododermatites en 2009 et en 2005-2006**



Concernant les autres lésions observées, les chiffres sont similaires à ceux qui avaient été constatés en 2005-2006. Les brûlures des tarse s'élèvent à 56 %, les croûtes de bréchet à 13 %, les hématomes à 18 % et les griffures à 33 % (cf. Figure 2). Des corrélations entre les lésions ont été recherchées. On constate que plus il existe de pattes présentant la lésion la plus grave en pododermatites dans un lot, plus il y a d'animaux

avec des brûlures des tarse et des croûtes de bréchet. L'ensemble de ces lésions est en effet à relier à la qualité de la litière en élevage. Le pourcentage de griffures sur un lot est corrélé négativement aux croûtes de bréchet. Le pourcentage de mortalité est, quant à lui, relié positivement au pourcentage d'animaux atteints de pododermatites graves.

**Figure 2 : Prévalence des lésions autres que les pododermatites relevées en 2009**



Courant 2009, une analyse qualitative des risques d'apparition des dermatites de contact a été initiée à partir de l'abondante littérature existante sur ce sujet. Cette analyse est en cours de validation et les premiers résultats nous permettent de mettre en relief quelques leviers d'amélioration sur ce critère. La bibliographie recensée est unanime sur le rôle primordial de la qualité de la litière dans l'apparition des lésions.

Les facteurs importants, mis en évidence dans la littérature, influençant la qualité de la litière sont les suivants :

- L'ambiance du bâtiment (température, hygrométrie et ventilation). Une attention particulière sur la gestion de l'ambiance au démarrage est à souligner. Certains articles notent en effet qu'une meilleure anticipation de la mise en place de poussins en termes de chauffage, tout en ventilant pour éviter une augmentation de l'hygrométrie, permet de limiter les problèmes de litière ultérieurs.
- L'activité des animaux en lien avec l'éclairage. En effet, des animaux actifs grattent et retournent la litière lui permettant ainsi de s'assécher. Une intensité lumineuse suffisante stimule l'activité des animaux de même qu'une coupure de lumière significative.
- Le génotype intervient également sur le niveau d'activité des animaux ainsi que sur leur susceptibilité à développer des lésions. En effet, sur la même litière, certains peuvent être plus enclins que d'autres à développer différentes lésions.

Les facteurs qui ont un impact non négligeable mais qui semblent tout de même moins importants que les trois premiers cités ci-dessus sont :

- L'isolation du bâtiment et le type d'abreuvement (siphonides, pipettes...). En effet, il est très souvent constaté dans la littérature que les pipettes avec récupérateur permettent de limiter le gaspillage d'eau et donc l'humidité de la litière.
- La saison avec une plus forte prévalence des dermatites en hiver.
- La litière (type et épaisseur). Les résultats de ces études ne sont pas toujours concordants selon le type de sol des bâtiments étudiés.
- La qualité de l'aliment et l'eau sont également très importantes. Ceci porte à la fois sur les caractéristiques microbiologiques (contaminants, germes pathogènes) et sur les qualités intrinsèques de l'aliment. Par exemple, des publications montrent qu'un aliment tout végétal entraîne davantage de problèmes de litière que ceux avec des protéines animales. Les matières premières utilisées et l'équilibre nutritionnel de l'aliment (absence de carence) sont également essentiels. Sur l'eau de boisson, lors du suivi d'élevages décrit plus haut, un éleveur, dont l'eau de boisson des animaux était concentrée en bactéries dès le démarrage (avec une contamination fécale dans les 10 premiers jours d'âge), a ensuite traité son eau avec acidifiants et peroxydes. Une amélioration nette de la qualité de sa litière et une diminution des dermatites ont été constatées suite à la mise en place de ce traitement.

De même, le pourcentage d'animaux contrôlés à l'abattoir présentant des pododermatites graves a diminué, entre les 2 bandes suivies, de 100 % à 30 %, quel que soit le bâtiment. Une interprétation mesurée doit cependant être apportée à ces résultats. En effet, contrairement à ce qu'il était prévu de faire, le traitement de l'eau a été effectué de la même façon dans les 2 bâtiments d'élevage et il n'est donc pas possible de mesurer la significativité du traitement. Par ailleurs, la variation des conditions météorologiques entre les deux lots a pu avoir un effet non négligeable. Cependant, la qualité de l'eau est de toute évidence un des paramètres à maîtriser pour améliorer la qualité de la litière et par conséquent le bien-être des poulets.

Certains points n'ont pas pu être traités dans notre analyse mais sont néanmoins importants. C'est le cas des troubles digestifs. En effet, en cas de diarrhées des animaux liées à des pathogènes, une dégradation de la litière est également observée et donc des dermatites apparaissent. De la même façon, le type de production a aussi un rôle non négligeable de par l'âge d'abattage, le sexe des animaux et leur poids vif.

La directive 2007/43/CE est un texte européen qui doit être transposé dans la législation de tous les Etats Membres avant le 30 juin 2010. La filière avicole française s'interroge sur l'appréciation et la transposition de la directive par les autres pays européens. Aucune information officielle n'est aujourd'hui disponible.

Il semble tout de même que la Finlande et le Danemark tendent à se rapprocher de la vision suédoise avec un contrôle des pododermatites entraînant des sanctions sur la densité en cas de non-conformité.

Le DEFRA, équivalent anglais de notre DGAL, a publié sur son site internet sa volonté de limiter la densité à 39 kg/m<sup>2</sup>.

D'après des correspondants économistes des filières, l'Italie et l'Espagne élèveraient les poulets à des densités inférieures au 39 kg/m<sup>2</sup> et ne s'inquièteraient donc pas de la mise en place de ce texte. Malgré cela, les modalités d'application de la directive semblent inquiéter tout de même les professionnels espagnols.

Aux Pays-Bas, les mêmes questions qu'en France se posent. En effet, ils élèvent également leurs animaux jusqu'à des densités souvent supérieures à 39 kg/m<sup>2</sup> et s'inquiètent comme nous de la perte économique que cela représenterait en cas de limitation trop importante de cette densité. Les problèmes de mortalité et d'inspection post-mortem les soucient également sans toutefois que nous en sachions plus sur la façon dont ils comptent gérer ce paramètre.

Par ailleurs, le projet européen Welfare Quality®, achevé en 2009, visait à établir des protocoles simples et objectifs d'évaluation du bien-être animal et ce pour différentes espèces. Dans le cadre de ce projet, une mesure automatisée des pododermatites a été développée.

Beaucoup de questions restent posées aujourd'hui. La plupart des réponses interviendront uniquement quand la transposition sera achevée dans toute l'Union Européenne. Tous les pays européens, y compris la France sont actuellement en phase de travail, mais une chose est sûre, il est extrêmement important pour la filière d'anticiper sur ce qui peut l'être dès aujourd'hui : contrôler les installations lumineuses, vérifier le respect des normes d'ambiance et prévoir des rénovations si le besoin s'en fait sentir. Ceci permettrait de retrouver rapidement une capacité de production proche de celle d'aujourd'hui.

L'ensemble de la filière doit s'impliquer pour le respect des différentes normes, l'éleveur bien sûr, mais aussi son encadrement technique et vétérinaire, son fabricant d'aliment, les accoueurs et sélectionneurs. L'éleveur n'est pas seul face à cette réglementation contraignante, son encadrement le conseillera au mieux et l'appuiera dans les démarches qu'il pourrait avoir à conduire. Le bien-être est un problème multidimensionnel pour lequel l'ensemble de la filière doit s'impliquer. Pour finir sur une touche d'optimisme, et en prenant l'exemple de l'impact positif attendu de l'allongement de la période d'obscurité sur la mortalité, les contraintes imposées aujourd'hui permettront sans doute l'amélioration de critères technico-économiques que nous ne pouvons pas encore apprécier.