CARACTÉRISATION DES TROUBLES DIGESTIFS NON SPÉCIFIQUES CHEZ LE DINDONNEAU PAR MORPHOMÉTRIE DE L'INTESTIN GRÊLE

Gabriel Irène[1], Quimerc'h Soizic[2], Vivien Soline[2], Mallet Serge[2], Travel Angélique[3], Chevalier Dylan[4], Bouvarel Isabelle[3]

[1] INRA, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly, [2] INRA, Unité de Recherches Avicoles, UMT ITAVI, INRA BIRD, 37380 Nouzilly, [3] ITAVI, Unité de Recherches Avicoles, UMT ITAVI, INRA BIRD, BP1, 37380 Nouzilly, [4] Chambre Régionale des Pays de la Loire, ITAVI, 49105 Angers

RÉSUMÉ

Nous avons cherché à caractériser les troubles digestifs non spécifiques en recrudescence chez le dindonneau par l'étude de sa structure intestinale. Pour cela, nous avons prélevé 304 animaux dans 19 élevages du centre et de l'ouest de la France. Les dindonneaux ont été autopsiés pour différencier les animaux sains, de ceux atteints de troubles digestifs spécifiques, ou non. Nous avons alors analysé la morphométrie du segment intermédiaire de l'intestin grêle (jéjunum) des animaux sains et de ceux atteints de troubles digestifs non spécifiques par une technique histologique (microdissection).
Les animaux présentant des troubles digestifs non spécifiques, c'est-à-dire entérite non spécifique (ENS) ou maldigestion, ont des poids inférieurs à ceux d'animaux sains. L'analyse morphologique intestinale des animaux atteints d'ENS ou de maldigestion montre un moindre développement des villosités intestinales ainsi qu'une augmentation de l'hétérogénéité de la taille de ces structures. Concernant les cryptes intestinales, leur taille n'est pas modifiée en présence d'ENS, alors que leur profondeur augmente dans le cas de maldigestion. Cependant, l'hétérogénéité de la profondeur des cryptes est augmentée lorsque les animaux sont atteints d'ENS ou de maldigestion. Ainsi, en présence de troubles digestifs non spécifiques, la taille des structures fonctionnelles d'hydrolyse et d'absorption de l'intestin (villosités) est diminuée, réduisant ainsi les capacités de digestion de l'intestin. Dans le cas de la maldigestion, l'augmentation de la profondeur des cryptes, lieu de renouvellement cellulaire et de production de mucus, représente un surcoût métabolique pour l'animal qui détourne des nutriments vers le fonctionnement du tube digestif au détriment de sa croissance. Par ailleurs l'hétérogénéité de la morphologie des villosités et des cryptes traduit une dégradation du développement intestinal.
Ces troubles digestifs non spécifiques sont donc liés à de profondes modifications de la structure intestinale qui pourraient expliquer en partie les baisses de poids observées.

ABSTRACT

We tried to characterize the non-specific digestive disorders that are increasing in turkey production using intestinal morphometry. Analyses were carried out on 304 turkeys from 19 farms in the Centre and Western parts of France. Turkey were autopsied to distinguish healthy birds from those with specific or non-specific digestive disorders. Morphometry of the median segment of the small intestine (jejunum) of healthy birds and birds suffering from non-specific digestive disorders was determined by an histological method (microdissection).
Turkeys with non-specific digestive disorders, non-specific enteritis (NSE) or maldigestion, had a lower body weight than healthy birds. Analysis of intestinal morphometry of turkey with NSE or maldigestion showed a lower intestinal villi development and an increased heterogeneity of the size of these structures. The size of intestinal crypts was not changed by NSE, but their depth was increased with maldigestion. However, the heterogeneity of the crypt depth was increased when birds were affected by NSE or maldigestion,. Thus, with non-specific digestive disorders, the size of functional structures responsible for hydrolysis and absorption in the intestine (villi) was reduced, leading to lower digestive capacity of the intestine. With maldigestion, the increase in crypt depth, place of cell turn-over and mucus production, implied a significant nutritional cost for the animal which use nutrients for digestive tract renewal instead of using it for its growth. Moreover, the heterogeneity of villi and crypts morphology showed a disorder in intestinal development.
Non-specific digestive disorders were characterized by important modifications of intestinal structure that might partly explain the lower body weights.

INTRODUCTION

Ces dernières années, de nouvelles contraintes ont été imposées en alimentation animale telles que l'interdiction des farines animales et des antibiotiques facteurs de croissance, la réduction du nombre d'anticoccidiens ou l'arrêt du seul anti-histomonique disponible en volaille. Parallèlement, une augmentation des troubles digestifs a été observée dans les élevages de volailles, en particulier les élevages de dindes. Ces perturbations digestives peuvent avoir pour conséquences des diarrhées, d'où une dégradation des litières, une baisse de la consommation alimentaire, des pertes de poids, et la prostration des animaux. Chez la dinde, différents agents peuvent être responsables de pathologies digestives, comme des parasites (coccidiose, histomonose), des champignons (candidose), des bactéries (collibacillose, salmonellose, enterite nécrotique) ou des virus (entérite hémorragique, reovirus, rotavirus, picornavirus...). Cependant l'agent responsable d'une entérite peut ne pas être connu, on parle alors de troubles digestifs non spécifiques.
Pour mieux connaître l'importance de ces troubles digestifs actuellement rencontrés en élevages de dindes en France, en particulier les troubles digestifs non spécifiques, et pour pouvoir les caractériser, l'étude suivante a été effectuée (Bouvarel et al., 2005). Elle a portée sur un échantillon de 50 élevages choisis aléatoirement à partir de listes fournies par différents organismes de production et situés dans le grand ouest. Cette étude a été réalisée pendant la période présentant le plus de troubles digestifs (de 0 à 42 jours). Pour chacun des élevages, des mesures ont été effectuées sur le terrain (collecte de données sur la conduite de l'élevage, caractéristiques des fientes). De plus, des autopsies complètes ont été réalisées en laboratoire vétérinaire sur des animaux de 42 jours issus des 50 élevages, selon un protocole standardisé entre laboratoire. Ces autopsies ont consisté en l'observation de tous les organes dont le tube digestif ainsi qu'une analyse de la flore intestinale (examen parasitaire, dénombrement bactériologique). La majorité des pathologies diagnostiquées à l'autopsie étaient des pathologies digestives (44% des animaux autopsiés), les entérites non spécifiques représentant 66% des maladies digestives. Pour mieux connaître les modifications au niveau intestinal d'animaux atteints de troubles digestifs non spécifiques, une analyse de la structure de l'intestin a été effectuée.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Elevages et animaux

Les dindonneaux (mâles, BUT T9) utilisés pour l'étude de la morphologie intestinale proviennent de 19 élevages choisis aléatoirement parmi les 50 élevages faisant partie de l'étude globale. Dans ces élevages, 16 dindonneaux ont été prélevés à 42 jours. Cet échantillonnage vise à avoir une bonne représentation de l'état des animaux sur le terrain. Le diagnostic obtenu à l'issue de l'autopsie complète réalisée sur ces animaux a permis de séparer les animaux en plusieurs groupes : sain, trouble autre que digestif, trouble digestif spécifique (coccidiose, candidose, entérite nécrotique), maldigestion (présence d'aliments non digérés dans les contenus digestifs), entérite non spécifique (inflammation de la muqueuse ou contenu liquide/mousseux ou aliment mal digéré sans agent responsable reconnu), et non sain au niveau digestif sans atteinte spécifique. Nous avons donc regroupé sous le terme d'entérite non spécifique (ENS), les animaux des deux derniers groupes. Les animaux sains et ceux atteints de troubles digestifs non spécifiques (ENS ou maldigestion) ont alors été sélectionnés pour analyser la morphométrie de leur intestin grêle.

1.2. Morphométrie de l'intestin grêle

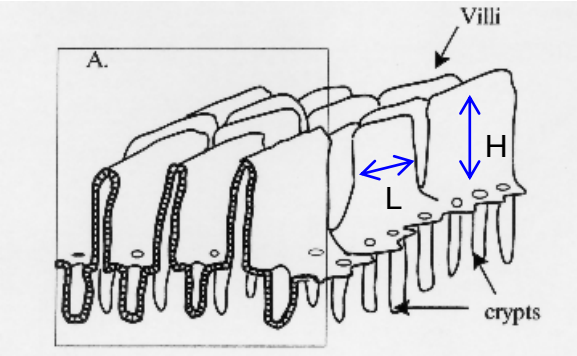
Les prélèvements intestinaux ont été effectués au niveau du jéjunum, segment intermédiaire de l'intestin grêle situé entre l'anse duodénale (après l'arrivée des canaux pancréatiques) et le diverticule de Meckel. Un morceau de segment digestif (0,5 cm) est prélevé au milieu du jéjunum. L'échantillon est coupé longitudinalement côté mésentère et rincé avec du sérum physiologique (NaCl 9g/l) maintenu à température ambiante. La méthode de morphométrie utilisée est une technique de microdissection (Goodlad et al., 1991). Le prélèvement est placé dans une solution de formol pendant 4h à 20h pour être fixé, puis rincé et stocké dans l'éthanol 70% à 4°C jusqu'à son analyse. L'échantillon est coloré avec le réactif de Schiff (coloration de Feulgen), puis rincé avec de l'eau distillée et stocké à 4°C dans de l'acide acétique 45% jusqu'à son analyse. Les villosités avec leurs cryptes sont délicatement individualisées sous une loupe binoculaire. Pour chaque prélèvement, 10 villosités et 20 cryptes de Lieberkühn sont photographiées et mesurées en utilisant un microscope, une caméra et un logiciel d'acquisition et d'analyse d'image (Visilog version 6.3, Noesis). Pour chaque villosité et crypte, la hauteur ou profondeur et la largeur sont mesurées (Figure 1), puis la surface et le rapport hauteur ou profondeur / largeur sont calculés. Par ailleurs, pour chaque échantillon, le coefficient de variation de chacun des paramètres est calculé ; il représente l'hétérogénéité de la structure intestinale pour un échantillon.

1.3. Analyses statistiques

Les données sont analysées à l'aide du logiciel Statview (version 5). Les moyennes sont comparées

par analyse de variance par le test de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$).

Figure 1. Schéma des villosités (villi) et cryptes de Lieberkhün (crypts) au niveau de l'intestin grêle (d'après Brunsgaard, 1995)
(H : hauteur ; L : largeur)



2. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

2.1. Méthode histologique

La technique histologique utilisée au cours de cette étude est rapide, peu coûteuse, et n'entraîne pas d'artefact de rétraction liée à la déshydratation contrairement à la méthode classique d'inclusion de l'échantillon dans la paraffine. Par ailleurs, cette technique permet de mesurer la largeur des villosités (Figure 1) et non pas leur épaisseur comme c'est le cas avec la méthode classique. Cette largeur peut être modifiée tout comme la hauteur des villosités (Mathlouthi et al., 2002, Salgado et al., 2002). La surface calculée à partir de la mesure de la hauteur et de la largeur correspond donc à la surface réelle de la villosité exposée à la lumière intestinale. Malgré ses avantages, cette méthode est moins utilisée que la méthode classique d'inclusion de l'échantillon dans la paraffine. Elle a cependant déjà été employée pour l'analyse morphologique de l'intestin de différentes espèces animales, aussi bien chez le porc (Salgado et al., 2002), le veau (Montagne et al., 1991), le lapin (Gallois et al., 2005) et le poulet (Mathlouthi et al., 2002 ; Gabriel et al., 2005; Mallet et al., 2005). Des études comparatives entre ces deux techniques ont été effectuées et ont montré des tailles de villosités et cryptes plus élevées dans le cas de la microdissection par rapport à l'inclusion dans la paraffine vraisemblablement dues à la rétraction liée à la déshydratation dans la cas de méthode classique (Fergusson et al., 1977 ; Alves et al., 2004).

2.2. Morphométrie de l'intestin grêle

Parmi les 304 animaux prélevés dans les 19 élevages, 79% présentaient des troubles digestifs dont 42% de troubles spécifiques (coccidiose, candidose, entérite nécrotique, association de troubles) et 58% de troubles non spécifiques, répartis en entérites non spécifiques (40%) et maldigestion (18%).
L'analyse morphologique des structures intestinales des animaux sains montre que les villosités et les cryptes du jéjunum des dindonneaux ont une forme allongée (rapports hauteur ou profondeur / largeur supérieurs à 2 pour les villosités et 4 pour les cryptes) (Tableau 1, Figures 2 et 3). La hauteur moyenne des villosités et la profondeur des cryptes sont respectivement de 1 516 et 267 µm. Ainsi les villosités ont une hauteur environ 6 fois plus élevée que les cryptes. La variabilité individuelle de la hauteur des villosités et de la profondeur des cryptes est semblable, 6,3 et 6,2 % respectivement.

Figure 2. Villosités avec leurs cryptes après dissection (Jéjunum de dinde) (x 25)

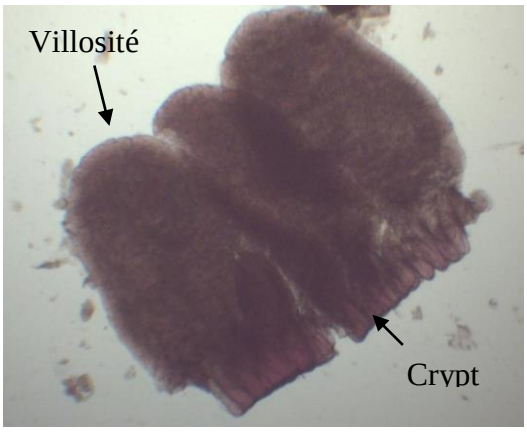
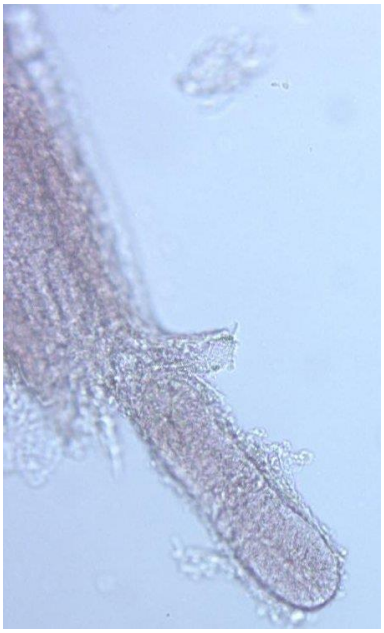


Figure 3. Cryptes (Jéjunum de dinde) (x 130)



Les animaux présentant des troubles digestifs non spécifiques, entérite non spécifique (ENS) ou maldigestion, ont des poids inférieurs à ceux

d'animaux sains, soit -14% et -24% respectivement (Tableau 1). Dans le cas d'animaux atteints de maldigestion, leur poids est inférieur à celui des animaux atteints d'ENS.

L'analyse morphologique intestinale des animaux atteints d'ENS montre un moindre développement de la surface des villosités intestinales par rapport aux animaux sains, comme dans le cas de la maldigestion, due à une diminution de la hauteur des villosités, mais sans modification de leur largeur (Tableau 1). Ainsi la surface des villosités des animaux atteints d'ENS ou de maldigestion est plus faible de 20 et 24 % par rapport à la surface des villosités des animaux sains. On observe par ailleurs une augmentation de l'hétérogénéité de la hauteur de ces structures en cas d'ENS ou de maldigestion. Concernant les cryptes intestinales, leur taille n'est pas modifiée en présence d'ENS alors qu'elles sont plus profondes dans le cas de la maldigestion, soit 14% de plus que les animaux sains. L'hétérogénéité de la profondeur des cryptes est augmentée aussi bien dans le cas des ENS, que dans le cas de la maldigestion. Ainsi, dans le cas des troubles digestifs non spécifiques, la taille des structures fonctionnelles d'hydrolyse et d'absorption de l'intestin (villosités) est diminuée. Ces modifications de structure peuvent réduire les capacités de digestion de l'intestin. Ainsi des corrélations positives ont été observées entre la hauteur des villosités et les gains de poids de porcelets (Pluske et al., 1996). Dans le cas de la maldigestion, on observe une augmentation de la profondeur des cryptes. Celle-ci est une réponse habituelle face à tout processus pathologique de l'intestin grêle dès lors que les cellules épithéliales des villosités sont affectées (Kent et Moon, 1973). Cette augmentation de profondeur des cryptes peut traduire une augmentation du renouvellement cellulaire comme le montre la relation entre la profondeur des cryptes et l'activité de prolifération cellulaire (Brunsgaard et Eggum, 1995). Ceci peut également être lié à une augmentation des sécrétions comme le mucus, les cellules productrices de mucines étant particulièrement concentrées dans les cryptes (Langhout et al., 1999). Cette plus forte production de mucus pourrait réduire la diffusion des nutriments, diminuant ainsi la digestion des aliments. Dans les deux cas, augmentation du renouvellement cellulaire ou production de mucus, ceci représente un surcoût métabolique pour l'animal qui détourne des nutriments alimentaires vers le fonctionnement du tube digestif au détriment de sa croissance. L'absence d'effet significatif sur la profondeur des cryptes dans le cas des ENS pourrait être dû au fait que les ENS seraient un stade intermédiaire de troubles digestifs non spécifiques, et la maldigestion un stade plus avancé. Par ailleurs l'augmentation de l'hétérogénéité de la morphologie des villosités et des cryptes en présence de troubles digestifs non spécifiques traduit une perturbation du développement intestinal.

Ces troubles digestifs non spécifiques sont donc liés à de profondes modifications de la structure intestinale qui pourraient expliquer en partie les plus faibles poids observés chez les animaux concernés.

CONCLUSION

Cette étude a porté sur un grand nombre d'animaux élevés dans différentes conditions. Dans ces conditions, la structure intestinale d'animaux atteints de troubles digestifs non spécifiques est fortement modifiée par rapport à des animaux sains. Cependant, ceci nécessiterait d'être confirmé chez des animaux élevés dans des conditions similaires avec un suivi plus important, dans la mesure où il n'a pas pu être évalué au cours de la présente étude si un éventuel 'effet élevage' contribue aux différences observées entre les trois groupes d'animaux. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés au segment intermédiaire de l'intestin grêle, mais la partie proximale ou distale pourrait aussi apporter d'autres informations. La méthode utilisée, une technique d'histologie par microdissection, présente l'avantage d'être simple, rapide et peu coûteuse, par rapport à la méthode classique d'inclusion de l'échantillon dans la paraffine. De plus, elle permet de mesurer la surface des villosités réellement en contact avec la lumière intestinale. Cette technique, encore peu utilisée, peut aussi être employée pour révéler des modifications liées à l'alimentation ou à l'utilisation d'alternatives aux antibiotiques facteurs de croissance (Mathlouthi et al., 2002; Gabriel et al., 2005; Mallet et al., 2005).

Remerciements

Ces travaux ont été réalisés avec le soutien financier du Cidef, du conseil régional des Pays de la Loire, de l'Ofival et de l'Adar.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alves, A., Pinheiro, V., Mourao, J.L., Pires, I., Oliveira, J., Gama, A., 2004. In '8th World Rabbit Congress', 7-10 Sept. 2004, Puebla, Mexico (C.M. Becerril et A. Pro Colegio edit.) Postgraduados publ., pp 422-426.

Bouvarel, I., Chevalier, D., Chatenet, X., Lebrasseur, A., Quimerc'h, S., Vivien, S., Puterflam, J., Ragot, O., Travel, A., Bourdette, C., Gabriel, I., 2005. Sci. Techn. Avic., Octobre (53), 4-11.

Brunsgaard, G., 1995. Thèse, Copenhage (DK), Danish Institute of Animal Science, Department of Nutrition, Research Centre Foulum et Research Department of Human Nutrition, The Royal Veterinary and Agricultural University.

Brunsgaard, G., Eggum B. O., 1995. Comp. Biochem. Physiol. A Physiol., (112A), 365-377.

Ferguson, A., Sutherland, A., MacDonald, T.T., Allan, F., 1977. J. Clin. Pathol., (30), 1068-1073.

Gabriel, I., Mallet, S., Leconte, M., Le Hagarat, A., Lalles, J.P., 2005. 2ème Congres de la Société Française de Nutrition, Marseille, France. 17-19 novembre 2005, p 132.
Gallois, M., Gidenne, T., Fortun-Lamothe, L., Le Huerou-Luron, I., Lalles, J.P., 2005. Reprod. Nutr. Dev., (45), 109-122.
Kent, T. H., Moon, H. W., 1973. Vet. Path., (10), 414-469.
Langhout, D.J., Schutte, J.B., Van Leeuwen, P., Wiebenga, J., Tamminga, S., 1999. Br. Poult. Sci., (40), 340-347.
Mallet, S., Gabriel, I., Paviot, C., Bertin, G., Lessire, M., 2005. 2ème Congres de la Société Française de Nutrition, Marseille, France. 17-19 novembre 2005, p 132.
Mathlouthi, N., Lalles, J. P., Lepercq, P., Juste, C., Larbier, M., 2002. J. Anim. Sci., (80), 2773-2779.
Montagne, L., Toullec, R., Savidge, T., Lalles, J.P., 1999. Reprod. Nutr. Develop., (39), 455-466.
Pluske, J. R., Williams, I. H., Aherne, F.X. (1996). Anim. Sci., (62), 131-144.
Salgado, P., Freire, J. P. B., Mourato, M., Cabral, F., Toullec, R., Lallès, J. P. (2002). Livest. Prod. Sci., (74), 191-202.

Tableau 1. Mesures histologiques de villosités et cryptes de la paroi intestinale (jéjunum) de dindes âgées de 42 jours

Paramètres			Groupe d'animaux		
			Sain	Entérite non spécifique[1]	Maldigestion
Nombre animaux			60	95	41
Nombre d'élevages			6	11	5
Poids animaux (g)			2204 ± 48 a	1888 ± 48 b	1680 ± 66 c
Mesure	Villosité	Hauteur (µm)	1516 ± 37 a	1296 ± 36 b	1234 ± 57 b
		Largeur (µm)	578 ± 18	535 ± 15	513 ± 28
		Surface (µm^2)	895 888 ± 45 771 a	715 342 ± 34 938 b	680 904 ± 74 688 b
		Hauteur/Largeur	2.77 ± 0.08	2.62 ± 0.09	2.58 ± 0.10
	Crypte	Profondeur (µm)	267 ± 9 b	272 ± 7 b	304 ± 9 a
		Largeur (µm)	65 ± 0.6	64 ± 0.8	65 ± 0.8
		Surface (µm^2)	17 490 ± 670	17 688 ± 679	19 803 ± 731
		Profondeur/Largeur	4.17 ± 0.13 b	4.32 ± 0.09 b	4.77 ± 0.11 a
	Vill / crypte	Hauteur/Profondeur	6.08 ± 0.25 a	5.19 ± 0.22 b	4.32 ± 0.32 c
		Surface	56 ± 4 a	46 ± 3 ab	41 ± 6 b
Coefficient de variation des mesures	Villosité	Hauteur (%)	6.3 ± 0.4 b	9.3 ± 0.4 a	8.0 ± 0.5 a
		Largeur (%)	16.2 ± 0.6	18.2 ± 0.6	17.8 ± 0.8
		Surface (%)	19.5 ± 1.2	23.4 ± 1.0	20.4 ± 1.1
	Crypte	Profondeur (%)	6.2 ± 0.3 b	8.3 ± 0.3 a	7.4 ± 0.4 a
		Largeur (%)	12.5 ± 0.5	14.0 ± 0.3	13.7 ± 0.6
		Surface (%)	14.9 ± 0.8 b	17.9 ± 0.6 a	16.3 ± 0.7 ab

(a-c) Les moyennes (± écart standard*)* suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($p \leq 0,05$)
[1] Comprend les animaux diagnostiqués lors de l'autopsie comme étant atteints d'entérite non spécifique et ceux non sains mais sans atteinte spécifique