

Cellules germinales primordiales aviaires au cœur des avancées de la conservation des ressources génétiques et de l'édition des génomes. L'exemple français

Amélie Juanchich, Sabine Alves, Jacky Ezagal, Maria Bernard, Christophe Klopp, Hervé Acloque, Frédérique Pitel, Christelle Hennequet-Antier, Aurélien Brionne, Aurore Jacques, et al.

▶ **To cite this version:**

Amélie Juanchich, Sabine Alves, Jacky Ezagal, Maria Bernard, Christophe Klopp, et al.. Cellules germinales primordiales aviaires au cœur des avancées de la conservation des ressources génétiques et de l'édition des génomes. L'exemple français. 14. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Mar 2022, Tours, France. pp.115-123. ⟨hal-04275281⟩

HAL Id: hal-04275281

https://hal.inrae.fr/hal-04275281v1

Submitted on 8 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



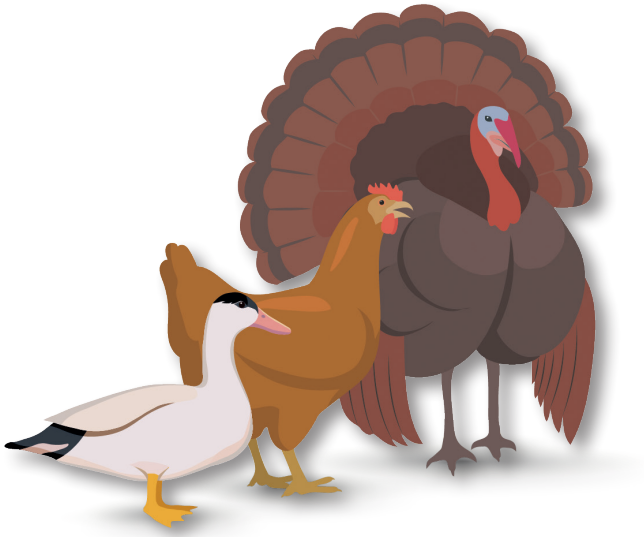
HAL Authorization

14e JRA

JOURNÉES DE LA RECHERCHE AVICOLE ET PALMIPÈDES À FOIE GRAS

9 & 10 mars 2022

TOURS - Centre des congrès Vinci



Un évènement organisé par :

ITAVI

INRAE

CTCPA ACCOMPAGNER LE MODÈLE AGROALIMENTAIRE DE DEMAIN

anses

W.V.P.A.

WPSA France

Thermo®

Nutrition animale pendant les fortes chaleurs : vous séchez ?

Découvrez nos solutions
nutritionnelles
et digitales !



Veillez naturellement au confort thermique des animaux

Parce que garantir le confort des animaux c'est aussi maintenir leurs performances et le revenu des éleveurs, le Groupe CCPA a développé la gamme de solutions Thermo®.

Les solutions nutritionnelles naturelles Thermo® minimisent l'impact négatif du stress thermique sur le bien-être des animaux et optimisent ainsi les performances technico-économiques. Les solutions digitales, quant à elles, assurent le suivi de leur confort thermique et vous donnent accès à de nombreux conseils d'experts.

www.thermo-heatstress.com

CCPA GROUPE

MAGRET, CONFIT, FOIE GRAS

LE FOIE GRAS
Produit du Patrimoine Culturel et Gastronomique Français
PATRIMOINE PROTÉGÉ
CODE RURAL : ARTICLE 654-27-1

Exceptionnels à chaque fois !







FOIE GRAS DE FRANCE

CONFIT DE FRANCE

MAGRET DE FRANCE

CIFOG
INTERPROFESSION DU FOIE GRAS

POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR LE FOIE GRAS :
LEFOIEGRAS.FR - ELEVAGE-GAVAGE.FR

Conception, Réalisation : ADOCOM-RP - Photos : Ph.Asset / CIFOG

Les 14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras ont été organisées avec le soutien financier des sociétés et organismes suivants :







































































Comité d'Organisation des 14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras

BAEZA Elisabeth	INRAE
BOUVAREL Isabelle	ITAVI
CADUDAL François	ITAVI
DUCLOS Michel	INRAE
DUVAL Elisabeth	INRAE
ETERRADOSSI Nicolas	WVPA
GERAERT Pierre-André	WPSA
GUERIN Jean Luc	INRAE-ENVT
KEMPF Isabelle	ANSES
MOLETTE Caroline	WPSA
PAMPOUILLE Eva	ITAVI
SALVAT Gilles	ANSES
TRAVEL Angélique	ITAVI
ZUBER François	CTCPA

SECRETARIAT

FLEURY Valérie	ITAVI
PLANTIE-ROUX Anne	ITAVI

Comité Scientifique des 14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras

BAEZA Elisabeth	INRAE	LAMOTHE Laurence	INRAE
BLANCHET Magali	Grimaud	LEBALLEUR Isabelle	
BOUVAREL Isabelle	ITAVI	LEBOUQUIN-LENEVEU Sophie	ANSES
CADUDAL François	ITAVI	MICHEL Virginie	ANSES
DELORY Annick		MOLETTE Caroline	WPSA
DUCLOS Michel	INRAE	PAMPOUILLE Eva	ITAVI
DUFLOT Boris	IFIP	**P**ANHELEUX Marina	CCPA
DUMAS Eric	CIFOG	SALVAT Gilles	ANSES
DUVAL Elisabeth	INRAE	**SA**NTE-LHOUTELLIER Véronique	INRAE
ETERRADOSSI Nicolas	WVPA	**SCH**AEFFER Jean-Michel	ITAVI
FACON Charles	Réseau Cristal	**T**AUZIA Bernard	SYNALAF
GERAERT Pierre-André	WPSA	TRAVEL Angélique	ITAVI
GUERIN Jean-Luc	INRAE-ENVT	van MILGEN Jaap	INRAE
KEMPF Isabelle	ANSES	**ZUBER François**	CTCPA
LABAN-MELE Séverine	Labeyrie		

TABLE DES MATIERES

Session Plénière - Auditorium Pierre de Ronsard

Evolution de la consommation de viande et la place de la volaille dans les nouvelles orientations
N. Damery 1

Réflexion pour une expérimentation d'un étiquetage des modes d'élevage
S. Vareille 2

Innovations et nouvelles technologies en filière ponte pour adresser les défis actuels
V. Guyonnet et M. Quentin 3

Les usages d'antibiotiques en aviculture en france, en europe et dans le monde : où en sommes-nous ?
C. Chauvin et N. Rousset 4

Systèmes d'élevage - Management - Bien-être animal - Session parallèle (1/2)

Quels sont les besoins comportementaux de l'espèce gallus gallus ?
L. Warin, M. Guinebretière, L. Bellegarde, S. Brajon, F. Burgaud, E. Gregorio, E. Guérin, E. Le Bihan-Duval, L. Reverchon-Billot, A. Warin et C. Arnould 7

Evaluation d'enrichissements pour l'amélioration du bien-être des poulets de chair.
E. Guérin, M. Stomp, S. Brajon, F. Aulanier, M. Leroux, L. Warin et I. Bouvarel 13

Utilisation de larves de mouches soldat noires pour améliorer le bien-être et le comportement des poulets de chair
E. Pampouille, C. Thomas, L. Warin, C. Souchet, C. Guidou, C. Trespeuch, J. Bernard, B. Meda et M. Quentin 19

Validation d'un système de tracking vidéo individuel pour détecter les comportements des poulets de chair en élevage
A. Depierreux, L. Warin, H. Brunet, D. Concordet, S. Lumineau, I. Bouvarel et P. Créach 24

SYNTHESE - Comment les volailles perçoivent leur environnement ?
L. Calandreau, V.H. Bessa Ferreira, R. Degrande et V. Guesdon 30

Modélisations tri-dimensionnelles des vitesses d'air au niveau des poulets de chair en cas de fortes chaleurs
Y. Guyot, S. Cissé et M. Quentin 38

La présence d'un bassin d'eau améliore le bien-être et les performances chez le canard de barbarie reproducteur
J.-P. Moysan, C. Szypula, L.-J. Belhomme, J. Allain, J.-F. Robert, M. Tavares, B. Le Berre, J.-M. Oizel et A. Keita 44

Economie et Sociologie - Session parallèle

SYNTHESE - Chine : facteur de déstabilisation des marchés mondiaux de la viande de volaille
J. Hercule et A. Le Lay 51

Agricultures bretonnes 2040 - quelles transitions pour les entreprises avicoles bretonnes ?
E. Dezat, D. Scheck, M. Marguet, C. Favé, L. Ligneau, H. Gorius, H. Le Goff, C. Quénard, L. Quéré, G. Lamour, A. Haye et N. Debéthune 62

La filière avicole en Algérie. Acquis, contraintes et enjeux
A. Kaci 67

Evolution des achats de ménages en viande de volailles : tendance 2017-2020
M. Bouzidi 72

Temps de travail en élevage de poules pondeuses en plein air
M. Ruch et J. Le Quilliec 77

Génétique et Reproduction - Session parallèle (1/2)

L'amélioration génétique de la résilience chez les poules pondeuses : des caractères prometteurs
N. Bédère, T. Berghof, K. Peeters, M.-H. Pinard - Van Der Laan, J. Visscher, I. David et H. Mulder 84

Sélectionner sur le comportement au nid pour améliorer la production d'œufs des poules en systèmes alternatifs à la cage
L. Bécot, N. Bédère, J. Coton, T. Burlot et P. Le Roy 89

Est-il possible de sélectionner des poids d'œuf plus homogènes ? Quelques données expérimentales en canard.
H. Chapuis, M. Morisson et L. Bodin 94

Recherche de nouveaux indicateurs ou biomarqueurs pour l'amélioration génétique de la qualité du poussin
M.-A. Bergeot, A. Collin, A. Travel, E. Pampouille, R. Akakpo, E. Raynaud, E. Cailleau-Audouin, C. Souchet, J. Bernard, L.A. Guilloteau, S. Metayer-Coustard et E. Le Bihan-Duval 99

Variabilité de l'abondance de la chémérine dans l'albumen et dans le plasma de différentes lignées de poules pondeuses
O. Bernardi, M. Reverchon, C. Ramé, Y. Baumard et J. Dupont 104

La chémérine : un marqueur potentiel de développement embryonnaire et d'éclosabilité chez la poule faisane ?
A. Estienne, M. Reverchon, S. Tricoire, C. Ramé, P. Froment et J. Dupont 109

SYNTHESE - Cellules germinales primordiales aviaires au cœur des avancées de la conservation des ressources génétiques et de l'édition desgénomes. L'exemple français
A. Juanchich, S. Alves, J. Ezagal, M. Bernard, C. Klopp, H. Acloque, F. Pitel, C. Hennequet-Antier, A. Brionne, A. Jacques, M.-C. Le Bourhis, S. Rival-Gervier, B. Pain et M. Govoroun 115

Pathologie et Prévention - Session parallèle (1/3)

Le rôle de la poussière comme véhicule et matrice de détection des virus H5N8 hautement pathogènes (CLADE2.3.4.4B) dans les élevages avicoles français en 2021.
F.Filaire, L. Lèbre, C. Foret-Lucas, T. Vergne, A. De Barros, A. Jbenyeni, P. Bolon, M. Paul, G. Croville et J-L. Guérin 128

Prélever l'air à la place des écouvillonnages pour détecter le virus de l'influenza aviaire chez le canard mulard ?
A. Keita, E. Niqueux, C. Allée, K. Ogor, A. Schmitz, M. Amelot, D. Courtois, T. Le Coq, R. Thomas, B. Grasland, S. Le Bouquin et A. Scoizec 133

SYNTHESE - Risques sanitaires spécifiques liés aux productions avicoles en plein-air : quels risques ? Quelles stratégies de protection sanitaire ?
J.-L. Guérin et J.M. Reperant 139

Interaction écologique et échanges à l'interface entre avifaune commensale et canards élevés en plein air
C. Le Gall-Ladevèze, C. Guinat, P. Fievet, B. Vollot, L. Lèbre, J.-L. Guérin, J. Cappelle et G. Le Loc'H 148

Décontamination des camions et cages de transport de canards: étude descriptive dans le Sud-Ouest de la France durant l'épizootie d'influenza aviaire 2020-2021
A. Huneau, A. Scoizec, R. Thomas, C. Martenot, A. Schmitz, I. Pierre, C. Allée, R. Busson, P. Massin, F.-X. Briand, C. Guillemoto, K. Louboutin, F. Souchaud, M. Cherbonnel-Pansart, E. Niqueux, B. Grasland, R. Souillard et S. Le Bouquin-Leneveu 153

Analyses phylogénétiques des virus influenza aviaire H5 hautement pathogènes en france durant l'épizootie 2020-21
F.-X. Briand, P. Massin, C. Martenot, M. Cherbonnel-Pansart, K. Louboutin, R. Busson, C. Allée, C. Guillemoto, F. Souchaud, I. Pierre, H. Quenault, P. Lucas, Y. Blanchard, N. Eterradossi, A. Van De Wiele, A. Scoizec, S. Le Bouquin-Leneveu, S. Rautureau, Y. Lambert, A. Schmitz, E. Niqueux et B. Grasland 158

Outils de génomique pour la surveillance " en temps réel " des viroses aviaires émergentes et réemergentes.
G. Croville, M. Walch, D. Chakraborty, A. Jbenyeni, L. Lèbre, S. Silva, F. Filaire, T. Vergne et J.-L. Guérin 163

Nutrition - Session parallèle (1/2)

Développement de calibrations de spectroscopie dans le proche infrarouge pour la prédiction de la digestibilité des nutriments chez le poulet
M. Traineau, J. Danel, F. Ammari et M. Vilariño 170

Vers une meilleure prédiction de la digestibilité de phosphore chez le poulet de chair - une méta-analyse
V. Khaksar, A. Narcy, M. Jlali, A. Preynat, C. Couture et M.-P. Létourneau-Montminy 175

Validation expérimentale d'une stratégie d'alimentation de précision chez les poulets de chair - pour réduire le coût alimentaire et l'excrétion des nutriments
E. Pampouille, Y. Guyot, L. Dusart, C. Souchet, J. Bernard et B. Meda 180

Impacts relatifs de l'énergie et de la protéine de l'aliment sur les performances des poulets de chair (Ross 308)
L. Bignon, O. Gestin, E. Crenn, B. Yang et C. Margetyal 185

SYNTHESE - Système énergétique et réduction des apports de protéines en production avicole.
J. Noblet, A. Cayzac et P. Cozannet 191

Durabilité - Environnement - Session parallèle

Autonomie protéique en aviculture : un jeu de rôles pour comprendre les relations entre secteurs végétal et avicole
B. Méda, M. Désolé, A. Vallière, L. Dusart et I. Bouvarel 202

Evaluer les services rendus par un atelier de volailles avec parcours : le cadre méthodologique Bouquet
G. Chiron, M. Pertusa, B. Meda, J. Protino, L. Lamothe, F. Liagre, H. Gross, A. Parizel, O. Tavares, J.-M. Fontanet et I. Bouvarel 207

SYNTHESE - Reconnecter productions animales et végétales avec leur territoire pour une diminution de l'empreinte environnementale : défiset opportunités pour l'aviculture française
E. Péchenart, V. Blazy, A. Wilfart et S. Harchaoui 214

Effet de la gestion des fientes de poules pondeuses sur les émissions d'ammoniac au stockage
L. Loyon, F. Guiziou, G. Nunes, M. Sarrazin et A. Gonzalez-Mora 224

Utilisation des désinfectants du couvoir à l'abattoir, quels risques pour la santé des utilisateurs ?
N. Rousset, A. Battaglia, P. Galliot, M. Pertusa, M. Ruch, S. Le Bouquin-Leneveu, A. Huneau, L. Balaine, C. Rioland, C. Soumet, P. Carpentier et G. Griveau 229

Génétique et Reproduction - Session parallèle (2/2)

SYNTHESE - L'épigénétique à l'interface entre l'environnement et l'ADN : quelle importance pour les pratiques d'élevage et les méthodes desélection ?
V.Coustham, C. Andrieux, A. Collin, I. David, J. Demars, M. Houssier, S. Lagarrigue, S. Metayer-Coustard, S. Mignon-Grasteau, A. Petit, A.Vitorino-Carvalho, T. Zerjal et F.Pitel 236

Programmation nutritionnelle du métabolisme hépatique chez le caneton mulard : étude de transcrits
A. Sécula, H. Chapuis, A. Collin, L. Bluy, A. Bonnet, L. Bodin, H. Manse, L. Gress, A. Cornuez, M.-D. Bernadet, X. Martin, C.M. Bonnefont et M. Morisson 247

Mise au point d'un panel d'assignation de parenté SNP unique pour deux espèces de canards et leur hybride
S. Brard-Fudulea, H. Chapuis, S. Leroux, R. Rouger, A. Vignal, C. Diot et M. Teissier 251

Construction a posteriori du pedigree d'une population expérimentale de canards à l'aide d'outils moléculaires
H. Chapuis, A. Hazard, S. Brard-Fudulea, X. Martin, B. Amadio, J. Barrieu, J.-M. Mallet, P. Morganx, G. Garrigues-Cardinet et H. Gilbert 256

Etablissement d'une stratégie de gestion génétique in situ pour la race locale " noire de challans "
R. Rouger, H. Deloison, M. Teissier, G. Restoux, D. Guémené et S. Brard-Fudulea 261

Pathologie et Prévention - Session parallèle (2/3)

Diminution significative de la résistance aux céphalosporines chez les E. coli de poulet et viande de poulet en France
A. Perrin-Guyomard, I. Kempf, M. Bruneau, B. Anger, P. Houée, P. Legrandois, C. Valentin, C. Chauvin, M. Gaugain, C. Adam, S. Le Fouille et S. Granier 268

Etude de la sensibilité des entérocoques et des colibacilles en volaille sur 5 huiles essentielles avec l'aromatogramme.
T. Mauvisseau 273

Caractérisation de Clostridium Botulinum dans le cadre d'épisode de botulisme aviaire en France : évaluation d'un nouvel outil
T. Le Gratiet, F. Anniballi, J. Boutant, M. Mellal, S. Rouxel, T. Poezevara, E. Houard, V. Rose, F.-X. Briand, M. Chemaly et C. Le Marechal 278

Caractérisation de souches d'Ornithobacterium Rhinotracheale par sérotypage et spectroscopie infrarouge
M. Mellal, A. Mercier, D. Rubeaux, H. Gantelet et S. Castagnos 283

Impact du microbiote intestinal et de ses métabolites sur le développement et la maturation du système immunitaire inné
V. Saint-Martin, V. Guillory, S. Trapp, P. Quéré et R. Guabiraba 288

Développement de mesures automatisées d'indicateurs sonores pour la détection précoce de trouble respiratoires chez les volailles
P. Créach, N. Pajusco, B. Brouard, L. Simon, M. Riou, M. Ducatez, M. El Jabri, E. Doutart, A. Khoumane et A. Travel 293

Nutrition - Session parallèle (2/2)

Ingestion de larves vivantes de mouches soldat noires (Hermetia illucens) par le poulet de chair
E. Recoules, N. Même, J. Bernard, C. Guidou, C. Trespeuch et B. Méda 300

Réponse du poulet JA757 à la concentration nutritionnelle et à l'apport d'huile lors d'un stress thermique
P. Sakkas, C. Toudic, J. Bentley, N. Hubert, K. Bebin et M. Panheleux 305

Effet de deux phytases chez des poulets nourris avec des aliment déplété en minéraux, énergie et acides aminés
X. Rousseau et G.A. Gomes 310

Intérêts de la sélection et des traitements technologiques des graines de lin à destination de la volaille
M. Guillevic, M. Lessire, A. Germain, H. Juin et G. Chesneau 315

Impacts à court et à moyen terme d'une supplémentation précoce en xylanase-xos sur le métabolome et le microbiome caecal
V. Jonchère, F.I. Bussière, V. Khaksar, M. Duclos, L. Cornaille, N. Meme, O. Zemb, C. Hennequet-Antier, C. Schouler, R. Guabiraba-Brito et A. Narcy 320

Méta-analyse : effet du calcium particulaire sur la qualité de coquille et la minéralisation osseuse chez la poule
F. Hervo, A. Narcy et M.-P. Létourneau-Montminy 325

SYNTHESE - La santé osseuse en fin de carrière des poules : un défi pour les nutritionnistes
M. Duclos, A. Gloux, A. Narcy et M. Quentin 330

Effets du traitement du bec et de la présentation d'un aliment biologique chez les poulettes entre 0 et 6 semaines d'âge
M. Lalanne-Rateau, M.-L. Godde, L. Bignon, M. Quentin et C. Margetyal 340

Impacts de l'utilisation de moringa oleifera dans l'alimentation des poules pondeuses de souche Isa Brown
K. Voemesse, Y.A.E. Kouamé, R.O. Ngueda Djeuta, O. N'nanlé, Y. Lombo et K. Tona 345

Une dose optimale d'acide butyrique améliore les performances de croissance des poulets de chair
Y. Lever, J.F. Le Roux et L. Duval 351

Effet de l'humate sur les performances, l'histopathologie des organes et la qualité de la viande des poulets de chair
A. Akaichi, A. Jebali, M. Benlarbi, T. Mahjoub, K. Kaboudi, R. Ben Chaouacha-Chekir, Z. Haouas et N. Boudhrioua 356

Pathologie et Prévention - Session parallèle (3/3)

Évaluation des réponses immunitaires suite à la vaccination contre campylobacter chez deux souches aviaires différentes
N. Gloanec, M. Guyard-Nicodème, S. Quesne, V. Béven, T. Poezevara, A. Keita, M. Chemaly et D. Dory 363

Mise en place et suivi de la vaccination anticoccidienne en élevage de poulettes futures pondeuses
D. Djabella, J.M. Reperant et J. Bertin 368

SYNTHESE - Salmonella à travers les filières animales
L. Bonifait et F. Collot 374

Cartographie de la détection d'un virus réassortant de la bursite infectieuse en poulet de chair en France
E. Moreau, S. Castagnos et S. Mouchel 380

Suivi terrain de la décroissance des anticorps maternels contre l'entérite hémorragique de la dinde (EH)
V. Turblin, G. Perreul et S. Lemière 385

Maladie de Gumboro : impact du pathotype viral sur le profil leucocytaire sanguin
A. Molinet, C. Courtillon, M. Amelot, A. Keita, B. Grasland, N. Eterradossi et S. Soubies 390

Effets combinés de la génétique et du microbiote intestinal sur la réponse vaccinale chez la poule pondeuse.
A. Lecoeur, F. Blanc, D. Gourichon, N. Bruneau, T. Burlot, F. Calenge et M.-H. Pinard - Van Der Laan 395

Etude rétrospective sur la maladie de Marek en france : focus sur les formes encéphalitiques
M. Pinson, M. Crispo, O. Albaric, B. Sraka, C. Facon, G. Perreul, T. Delquigny, S. Lemière, C. Belloc et J.-L. Guérin ...400

Altération du profil en sphingolipides chez les poulets nourris avec une dose de fumonisines considérée comme sûre
D. Tardieu, M. Matard-Mann, P. Nyvall Collén et P. Guerre 405

Système d'élevage - Management - Bien-Etre Animal - Session parallèle (2/2)

Mise au point et validation d'une méthode d'évaluation en ferme du bien-être des canards mulards prêts-à-engraisser
J. Litt, M. Varvenne et M. Pertusa 412

L'enrichissement du milieu de vie des canards de barbarie : effet sur le picage, le comportement exploratoire
B. Ruel, D. Chevalier et A. Faouën 418

Effet de la souche et de la densité sur le comportement et la santé du poulet de chair élevé en lumière naturelle avec des enrichissements
S. Mignon-Grasteau, L. Warin, L. Mabille, B. Méda, E. Le Bihan-Duval, I. Bouvarel, J.-P. Moysan, F. Mocz et M. Guinebretière 423

Effets souche et densité sur les performances et la qualité de viande de poulets élevés avec lumière naturelle et enrichissements
B. Méda, M. Guinebretière, C. Berri, S. Mignon-Grasteau, J.-P. Moysan, T. Bordeau, E. Raynaud, J. Bernard, L. Warin, I. Bouvarel et E. Le Bihan-Duval 428

SYNTHESE - L'ovosexage en Europe : état des lieux et perspectives éthiques et techniques
M. Quentin, M. Bourin, J. Gautron et S. Réhault-Godbert 434

L'imagerie hyper-spectrale comme outil d'ovo-sexage pour les embryons des souches d'œufs bruns - une enquête terrain à grande échelle
A. Förster, L. Zumbrink et J. Hurlin 444

Anesthésie électrique d'embryons de poussins mâles au deuxième tiers de l'incubation dans le respect du bien-être animal - de la recherche fondamentale à la pratique à haut rendement
L. Zumbrink, A. Förster et J. Hurlin 449

L'éclosion à la ferme est elle possible dans les bâtiments équipés de radiants ?
Y. Guyot, L. Ravon, G. Laval, A. Collin, L.A. Guilloteau, A. Redo, F. De Louw, B. Maze, C. Souchet, P. Rousseau, K. Germain, M. Quentin et A. Travel 454

Effet des conditions pré et post-incubation et d'une supplémentation nutritionnelle, sur les performances et le métabolisme des poulets
A. Travel, A. Collin, E. Pampouille, E. Raynaud, E. Cailleau-Audouin, S. Crochet, N. Couroussé, T. Bordeau, C. Souchet, M. Chezaud, J. Bernard, S. Tesseraud, C. Berri, L.A. Guilloteau, E. Le Bihan-Duval et S. Metayer-Coustard 459

SYNTHESE - Qualité du poussin : indicateurs et leviers
S. Metayer-Coustard, J.-C. Bethuel, A. Collin, E. Le Bihan-Duval, J. Puterflam et A. Travel 465

Hygiène et Qualité des Produits - Session Parallèle

SYNTHESE - Qualité technologique et caractéristiques des produits transformés de volailles
L. Daviet, C. Jarrault et E. Baeza 477

Prédiction du taux de fonte du foie gras de canard par mesures non destructives
G. Cordier, F. Zuber, A. Vautier, T. Lhommeau, M. Bourin, I. Bouvarel et J. Litt 486

Identification de biomarqueurs plasmatiques et hépatiques de la qualité du foie gras par métabolomique
Z. Mozduri, N. Marty-Gasset, B. Lo, A.A. Masoudi, M. Morisson, C. Canlet, J. Arroyo, A. Bonnet et C.M. Bonnefont ...490

Détection des foies gras de canard ayant subi un processus de congélation-décongélation
M. Bourin, A. Vautier, C. Rondeau-Mouro, M. Halgrain, G. Collewet, L. Aubry et L. Theron 495

Réexpression de facteurs myogéniques précoces au moment de l'apparition des défauts musculaires chez le poulet standard
C. Praud, M. Duclos, E. Godet, T. Bordeau, J.-M. Thoby, V. Gigaud et C. Berri 501

Détection et caractérisation de souches de Clostridioides difficile dans des élevages de poulets en France
C. Le Marechal, M. Guyard, L. Martin, C. Gateau, S. Rouxel, J. Couturier, T. Poezevara, R. Syeb-Zaidi, M. Marault, A. Youssouf, P. Kooh, M. Chemaly, F. Barbut et O. Firmesse 506

Effet du statut en vitamine D sur la croissance postnatale et la qualité de la viande de poulet
C. Berri, C. Praud, M. Duclos, A. Narcy, S. Réhault-Godbert, T. Bordeau, E. Godet, J. Bernard, J.-M. Thoby et V. Gigaud 511

SYNTHESE - Qualité microbiologique de produits de volaille et moyens de maitrise
S. Planchon et S. Guillou 517

Existe-t-il des marqueurs métaboliques de la qualité de coquille chez la poule pondeuse ?
E. Pampouille, J. Gautron, N. Meme, L. Dusart, M. Duclos, G. Benzoni, V. Gigaud, E. Folegatti, J.-M. Thoby, M. Quentin, E. Lespessailles, T. Janvier, H. Toumi et A. Narcy 533

Evaluation de la qualité des œufs par des méthodes d'imagerie non invasives et non destructives
J.A. Pereira Macedo, H. Adriaensen, F. Lecompte, F. Elleboudt, S. Réhault-Godbert et N. Guyot 537

Systèmes d'élevage - Management - Bien-Etre animal - Posters

Impact de l'âge et de la souche sur le statut antioxydant du poulet de chair
E. Coudert, E. Baeza, J. Jimenez, E. Cailleau-Audouin, T. Bordeau, P. Chartrin et C. Berri 544

Lumiere naturelle en élevage de poulets de chair : état des lieux des aménagements, pratiques de gestion et impacts sur les animaux et les éleveurs
P. Créach, L. Warin, J. Gervais et J.-M. Fontanet 551

Litières alternatives à la paille broyée : effets sur le bien-être et les performances de poulets standard.
L. Ottmann, L. Warin et A. Dinh 556

Effets de la densité d'élevage sur le poids vif et les indicateurs de bien-être chez le poulet de chair
E. Guettier, J. Bernard, M. Chahnamian, P. Ganier et S. Mignon-Grasteau 561

Incidences de la gestion de la qualité physico-chimique de l'eau de boisson dans les élevages de volailles de chair.
N. Galtier, P. Remiot, D. Chevalier et E. Chataigner 566

Développement d'algorithmes de tracking par imagerie pour le relevé d'indicateurs de bien-être des poulets en élevage
P. Créach, L. Warin, I. Bouvarel, D. Concordet et H. Brunet 571

Effet d'un additif commercial sur la qualité des litières des volailles, les pododermatites et la fixation de l'azote
N. Joguet, M. Poujol, A.L. Laza Knoerr, C. Alleno et P. Dumargue 576

Impact des niveaux plasmatiques de 25-OH-D3 via des cures dans l'eau sur les troubles locomoteurs des poulets
C. Guilloton, A. Dronneau, C. Boulard, J.-M. Thoby, S. Ethève, Z. Fauqueux, A. Langlois et V. Gigaud 582

Améliorer la tenue et la robustesse des pattes du poulet de chair par la sélection
B. Duggan, J. Lesuisse et M. Swalander 587

Méthodologies pour l'étude du comportement de poules pondeuses
L. Lorieau, B. Chevé, C. Bouget et A. Cousin 591

Évaluation des performances des poules reproductrices chair dans un centre d'élevage industriel en Algérie
N. Belaid-Gater, A. Mouhous, A. Bakhelal, T. Merhab et S.A. Kadi 596

Sélection d'un panel d'indicateurs pour l'évaluation en ferme de l'état des canards mulards en phase d'engraissement
J. Litt, C. Laborde, C. Leterrier et L. Fortun-Lamothe 602

Le challenge nutritionnel jeûne/ réalimentation : un nouveau modèle d'étude du métabolisme hépatique chez le canard mulard
C. Andrieux, S. Biasutti, M. Marchand, M. Morisson, V. Coustham, S. Panserat et M. Houssier 608

Fractionnement de l'alimentation du canard mulard en phase de rationnement
M.-D. Bernadet, A. Hazard, J. Litt et X. Martin 614

Mise à mort en élevage : quelles bonnes pratiques pour le choix des animaux cibles en élevage avicole ?
A.-C. Dufay-Lefort, J. Marguerie, F. Collot et S. Boucher 620

Pathologie et Prévention - Posters

Les facteurs déclenchants de la colibacillose du poulet de chair : étude épidémiologique dans 80 élevages en France
J. Puterflam, P. Galliot, L. Balaine, I. Kempf, L. Le Devendec, C. Lucas, S. Bougeard, S. Delannoy, C. Schouler, S. Le Bouquin et R. Souillard 627

Etude de la capacité des détergents enzymatiques à lutter contre les biofilms d'Escherichia coli
A. Hanin, D. Levert, C. Soumet, A. Bridier, N. Rousset et A. Travel 632

Capacité de flores de barrière à limiter l'implantation et le développement de Salmonella Typhimurium
C. Soumet, A. Ait Ahmed, P. Le Grandois, N. Rousset, A. Travel, A. Hanin et A. Bridier 638

Effets de Pediococcus acidilactici et Saccharomyces cerevisiae sur l'entérite nécrotique subclinique induite expérimentalement chez le poulet de chair.
R. Merati, A.A. Abdel-Fattah Mohamed, Z. Berrama, S. Temim, H. Aggad et A. Hammoudi 644

Effet de 3 produits probiotiques sur des poulets soumis à un challenge entérite nécrotique à Clostridium perfringens
C. Hofacre, R. Raspoet, E. Auclair, E. Rondel, T. Gaydos et T. Kiros 649

Méthode d'application des vaccins anticoccidiens en élevage de poulettes biologiques futures pondeuses
D. Djabella et J. Bertin 655

Etude de l'impact de vaccins anticoccidiens sur les performances des poulets
J.M. Reperant, M. Thomas-Hénaff, C. Benoit, C. Raybaud, Y. Chachoua, P. Le Bihannic et M.-C. Techer 659

Stratégies de contrôle de la coccidiose : évaluation sanitaire et zootechnique en condition expérimentale sur une souche poulet à croissance lente
A.-C. Dufay-Lefort, A. Travel, C. Souchet, F. Skiba et J.M. Reperant 663

Intérêt de substances aromatiques chez le poulet de chair alimenté sans anticcocidien ou vacciné contre la coccidiose
A. Canin, A. Mahieu, P. Desbordes, A. Greuter et R. Domitile 668

Un mélange microencapsulé de substances aromatiques dans un modèle de coccidiose chez les poulets de chair
B. Tugnoli, A. Piva et E. Grilli 674

Evaluation de l'efficacité de produits alternatifs dans la prévention de la coccidiose en poulets de chair label
M. Lamarque, F. Rochon et F. Skiba 678

Pression helminthique chez les volailles de chair et ponte plein air
J.M. Reperant, A.-C. Dufay-Lefort et A. Travel 683

Etude in vitro sur l'effet de phytoactifs non volatils contre Histomonas meleagridis
C. Carlu, C. Girard, T. Chabrillat, D. Schuler, D. Liebhart et S. Kerros 687

Evaluation de l'effet de phytomolécules sur la croissance d'Histomonas meleagridis en conditions in vitro
E. N'Guetta, K. Vermeulen, R. Neto et A. Wealleans 692

Intérêt de l'autovaccin Ornithobacterium rhinotracheale en production de dinde sur les performances
M. Mellal et C. Babin 698

Evaluer le retour sur investissement d'un changement de protocole vaccinal au couvoir en poulets Label
C. Béra, N. Cariou, J. Trebault et M. Mellal 704

Efficacité de la vaccination au couvoir de poulets de chair contre la Bronchite infectieuse (Mass + 793/B) : comparaison desperformances technico-économiques selon la pression virale sauvage
E. Moreau, I. Savonik, M. Lecoupeur, H. Cotta, J. Leorat et S. Mouchel 709

Immunisation passive des poussins par l'administration d'un autovaccin aux poules reproductrices
A. Keita, L. Le Devendec, M. Amelot, J. Puterflam, C. Lucas, S. Bougeard, S. Delannoy, C. Schouler, P. Fach, R. Souillard et I. Kempf 714

Maitriser le risque de diffusion de l'influenza hautement pathogène entre les élevages de volailles : exemple de la zone Vendée-Deux-Sèvres lors de l'épizootie d'IAHP H5N8 de 2020-21 en France.
A. Scoizec, A. Huneau, R. Souillard, R. Thomas, A. Schmitz, F.-X. Briand, P. Massin, C. Martenot, M. Cherbonnel-Pansart, C. Allée, R. Busson, C. Guillemoto, K. Louboutin, I. Pierre, F. Souchaud, E. Niqueux, B. Grasland, C. Mourrieras et S. Le Bouquin-Leneveu 719

Quels outils et démarches utilisés par les éleveurs pour piloter la santé en élevage en filière avicole ?
A.-C. Dufay-Lefort, A. Travel, A. Poissonnet, A. Hemonic, A. Sigwalt, J. Defois, S. Di Bianco, C. Manoli, P. Kaufmann, F. Maupertuis, B. Dile, M. Leblanc-Maridor et A. Wache 725

Bio-accumulation de la fumonisine B1 chez le poulet et effet d'argiles intercalées par des algues sur cette accumulation
J. Laurain, D. Tardieu, M. Matard-Mann, M. Angeles Rodriguez et P. Guerre 730

Activation des hétérophiles et des monocytes chez le poulet de chair par un extrait d'algue et sa formulation commerciale
F. Bussy, N. Guriec, O. Mathiaud, M. Le Goff, J. Delarue et P. Nyvall Collén 735

Nutrition - Posters

Détermination des besoins optimaux en acides aminés soufrés (met+cys) chez le poulet de chair supplémenté en l- met.
B. Matton, J. Millecam, D.R. Khan, A. Dedeurwaerder et B. Saremi 741

Valeur nutritionnelle de différents tourteaux de soja expeller français chez le poulet de chair
J. Danel, E. Tormo, M. Traineau, A. Quinsac, C. Peyronnet et M. Vilariño 746

Effet de l'azolla sur les paramètres zootechniques et biochimiques du poulet de chair
N. Sahraoui, N. Cherairi, A. Ouachek et J.-L. Hornick 752

Effets des feuilles de manihot esculenta dans l'aliment sur les performances de croissance des poulets de chair sasso.
R.O. Ngueda Djeuta et K. Tona 757

Une consensus phytase bactérienne variant phyg maintient les performances de poulets nourris sans phosphore inorganique
A.-M. Debicki-Garnier, A. Bello, Y.Y. Dersjant-Li, E. Van Eerden, C. Kwakernaak, L. Marchal et B. Messager 762

Des régimes alimentaires adaptés au confinement des canards : des fibres pour optimiser l'énergie et les protéines
M. Bijja, F. Lavigne, J. Arroyo et L. Lamothe 768

Effet d'une forte réduction de calcium et de phosphore dans l'aliment des poulets sur leurs performances zootechniques
C. Marecaille, X. Roulleau et C. Alleno 772

Intérêt de l'utilisation d'un noyau phytogénique dans la gestion d'un pool de mycotoxines en volaille de chair en comparaison à un capteur à base d'argile : nouvelle approche par la gestion des seuils de tolérance aux contaminants de l'aliment
M. Jaubert et G.V. Plichart 777

Une enzyme recombinante pour contrecarrer les effets de la zéaralénone sur les pondeuses
L. Gabardo, V. Starkl, U. Hoffstetter, I. Artavia, B. Doupovec et L. Rouxel 783

Population microbienne intestinale et profil d'acides gras volatils chez des poulets nourris avec de la lignocellulose
M. Bogusławska-Tryk et L. Darras 788

Évaluation de la biodisponibilité de sources de manganèse comparées à un sulfate de manganèse
A. Romeo, R. Bouvet, C. Bernard et C. Alleno 794

Effet d'une source d'oligo-éléments combinée ou non à l'acide butyrique sur les performances de croissance des poulets
M. Huard, R. Davin, F. Molist et S. Peris 799

Influence du complexe d'acides aminés de manganèse dans les aliments pondeuses sur l'ultrastructure et les propriétés mécaniques de la coquille
C. Torres, L. Linares et J. Wang 804

Vitamine C et alternative naturelle, effets sur les performances du poulet de chair durant un stress thermique
J.F. Le Roux, A. Atkinson, J. Gonzalez et C. Alleno 809

Strategies nutritionnelles pour le maintien des performances du poulet label en conditions estivales
F. Rochon, L. Bignon, M. Lamarque, O. Gestin et F. Skiba 814

Utilisation d'un complexe algues-argile dans l'aliment des poulets de chair : un moyen de répondre aux enjeux économiques et environnementaux
M. Gallissot, E.A. Pedro, L.F.T. Albino, H.S. Rostagno, R. Pereira et M.A. Rodriguez 819

Performance de poulets de chairs nourris avec différents niveaux d'arabinoxylanes solubles avec ou sans stimbiotique
X. Rousseau, G.A. Gomes et T. Tedeshi Dos Santos 824

La conduite d'élevage doit-elle être adaptée en cas d'ajout de prébiotique à base de saccharomyces cerevisiae ?
A. Askri, P. Robin, N. M'Hamdi, A. Raach-Moujahed, Z. Maalaoui et H. Debbabi 829

Impact des extraits végétaux à base de carvacrol sur les performances de croissance des poulets de chair ; approche par méta-analyse
J. Labarre, J. Idiart, J.-F. Gabarrou et M.-P. Létourneau-Montminy 834

La supplémentation de biofacteurs protégés sur des performances des poulets de chair soumis à un stress précoce
L. Lahaye, C. Bortoluzzi, F. Perry, A. Cottin-Tillon, S. Benaben, E. Landeau, R. Arsenault, D.R. Korver, M. Kogut et E. Santin 839

Effet de l'administration de fractions de levures riches en mannanes et β- glucanes (1,3 et 1,6) sur la flore fécale et les performances en dindes
M. Zampiga, F. Sirri, E. Rondel, G. Manfreda, A. Lucchi et A. De Cesare 845

Economie et Sociologie - Posters

Pratiques et structuration de l'étape ramassage de volailles dans le Sud-Ouest
M. Pertusa, Y. Kouadio, N. Boizumeau, I. Henry, M. Blin et N. Rousset 853

Difficultés et opportunités de la production de poulets de chair pour les circuits courts en région Centre Val de Loire
C. Leterrier et M. Duclos 858

Génétique et Reproduction - Posters

Élimination du glycérol de la semence décongelée de coq par centrifugation dans un gel colloïdal synthétique
H.-L.H. Lin, I. Grasseau, P. Mermillod, E. Blesbois et A. Vitorino Carvalho 866

Programmation nutritionnelle du métabolisme hépatique chez le canard mulard : données zootechniques
L. Bodin, A. Sécula, H. Chapuis, A. Cornuez, M.-D. Bernadet, E. Cobo, J. Barrieu, X. Martin, H. Manse, M. Lessire, F. Mercerand, M.-C. Le Bourhis, J.-M. Brun, C.M. Bonnefont et M. Morisson 871

Durabilité et Environnement - Posters

Performances économiques, sociales, environnementales et territoriales de la filière IGP " volailles de l'orléanais "
B. Méda, M. Ferrand et M. Duclos 878

Refonte méthodologique du bilan réel simplifié volailles
Y. Guyot, V. Blazy et J.-M. Fontanet 883

Bénéfices environnementaux de la baisse du niveau de protéine brute dans l'aliment poulet de chair : quantification par approche méta-analytique
A. Nozeran, M.-P. Létourneau-Montminy, S. Fontaine et W. Lambert 888

Effet de la teneur en protéine et des conditions d'élevage sur l'empreinte environnementale des aliments en Ross 308
C. Raybaud, P. Moquet, N. Brevault, S. Lecuelle, S. Fontaine et W. Lambert 894

Des extraits de plantes et électrolytes permettent de diminuer l'impact du stress thermique sur le comportement des poulets
A. Roux, M. Panheleux, F. Robert et P. Sakkas 900

Les facteurs d'émission de particules en poulet de chair
N. Genot, V. Blazy, J. Deruwez, E. Desdouets et M. Hassouna 905

Qualité de l'air en atelier d'engraissement de canard : niveaux d'exposition aux poussières facteurs de variation
N. Rousset, G. Brohan, A. Vanhoye, N. Boizumeau, C. Delaquèze, D. Bouillaud et J. Litt 910

Exposition aux produits biocides en élevages de volailles reproductrices et risques pour la santé des utilisateurs
E. Coularou, A. Huneau, R. Thomas, V. Bellingard, J. Lori, P. Carpentier, N. Rousset et S. Le Bouquin-Leneveu 915

Perception des risques respiratoires par les producteurs de canards en engraissement et comportement de prévention mis en œuvre
N. Rousset et A. Battaglia 921

Création d'un jeu sérieux pour sensibiliser aux services rendus par les parcours avicoles plein-air
M. Pertusa, V. Falcon, M. Lesgourgues, B. Meda, I. Bouvarel, F. Liagre, P. Guillet, G. Chiron et L. Lamothe 927

Hygiène et Qualité des Produits - Posters

Accumulation dans les tissus et transfert dans l'œuf des paraffines chlorées après ingestion par la poule pondeuse
M. Mézière, P. Marchand, S. Hutinet, F. Larvor, E. Baeza, B. Le Bizec, G. Dervilly et R. Cariou 935

Revue sur la translucidité de la coquille d'œuf : description, causes et voies d'amélioration de la qualité des œufs.
M. Huard 941

Contrôle de la calcification de la coquille selon différentes sources de vitamine D3
J. Gautron, A. Boinet, J.-M. Thoby, E. Folegatti, V. Labas, D. Tomas et V. Gigaud 947

Conséquences de l'allongement de la période de ponte des poules pondeuses sur la qualité des œufs
M. Bourin, A. Travel, C. Souchet, J. Bernard, E. Ledru, N. Bernardet, J. Jimenez, M. Chesse, S. Réhault-Godbert et N. Guyot
.....952

Enrichissement des œufs : effet sur les performances des poules, la qualité et la composition nutritionnelle des œufs.
M. Pruvost, M. Colin, D. Chevalier et A. Faouën 956

Pepsine de poulet : effets coagulant et protéolytique sur les caséines du lait
F.A. Benyahia, O. Aissaoui Zitoun, B. Meghzili et M.N. Zidoune 962

Optimisation des paramétres de floculation et de coagulation du lait camelin avec la pepsine de poulet en comparaison avec le lait bovin par la méthode des surfaces de réponse
B. Bouras, O. Aissaoui Zitoun, F.A. Benyahia, F. Djeghim et M.N. Zidoune 967

EXPOSES J1

EVOLUTION DE LA CONSOMMATION DE VIANDE ET LA PLACE DE LA VOLAILLE DANS LES NOUVELLES ORIENTATIONS

Nathalie DAMERY

ObSoCo 28 boulevard de la Bastille 75012 PARIS -

n.damery@lobsoco.com

RÉSUMÉ

La complexité de la situation actuelle résulte de ce que la dynamique défavorable que connait le marché de la viande trouve son origine dans un faisceau de facteurs différents mais interdépendants (rejet de l'industrialisation…). Pourtant les consommateurs sont loin de rejeter massivement la consommation de viande, et de la volaille en particulier. De profonds imaginaires positifs sont encore à l'œuvre, véritables leviers d'une consommation du « moins mais mieux » et d'un autre rapport à l'alimentation carnée.

L'enseignement majeur de nos Observatoires est que la transformation positive des imaginaires associés à la viande (qu'elle soit rouge ou blanche) passe par une « stratégie pluri-action » qui prend en compte des éléments factuels de réassurance : sur la traçabilité, sur la santé dans son double versant, innocuité et bien-être), sur la tradition, sur le gout et la qualité et sur la quête de sens. Il s'agit de reconnecter la viande à l'histoire de sa fabrique et de ses représentations. L'ensemble des acteurs œuvrant dans la filière, depuis les process d'élevage, de transport et d'abattage jusqu'à la distribution doivent montrer/démontrer qu'ils prennent en considération tous ces paramètres qui affectent aujourd'hui un imaginaire négatif.

Cette transformation des imaginaires passe par l'activation d'un véritable pacte de confiance qui s'articulerait autour d'engagements de la filière sur la règlementation de la taille et de l'intensivité des élevages, les certifications/labellisations, la démystification des process d'élevage et d'abattage et la création de nouveaux liens entre consommateurs, éleveurs et animal.

Sources :

ObSoCo - Observatoire de la qualité alimentaire 2017

ObSoCo - Observatoire de l'éthique alimentaire 2019

ObSoCo - Désir de viande 2019

ObSoCo - En préparation : Observatoire du rapport à l'alimentation (à paraitre Mars 2021)

ABSTRACT

MEAT CONSUMPTION EVOLUTION AND THE POSITION OF POULTRY IN THESE NEW TRENDS

The complexity of the current situation results from the fact that the unfavorable dynamics in the meat market originate from a bundle of different but interdependent factors (rejection of industrialization, etc.). Yet consumers are far from overwhelmingly rejecting the consumption of meat, and poultry in particular. Deep positive imaginations are still at work, real levers for consumption of "less but better" and a different relationship to eating meat. The major lesson of our Observatories is that the positive transformation of imaginaries associated with meat (whether red or white) requires a "multi-action strategy" which takes into account factual elements of reinsurance: on traceability, on health in its double aspect, harmlessness and well-being), on tradition, on taste and quality and on the quest for meaning.

It is about reconnecting meat to the history of its manufacture and its representations. All the actors working in the sector, from the breeding, transport and slaughtering processes to distribution must show / demonstrate that they take into consideration all these parameters which today affect this negative imagination.This transformation of imaginaries involves the activation of a real pact of confidence which would be articulated around the commitments of the sector on the regulation of the size and intensity of breeding, certifications / labels, the demystification of processes. breeding and slaughter and the creation of new links between consumers, breeders and animals.

REFLEXION POUR UNE EXPERIMENTATION D'UN ETIQUETAGE DES MODES D'ELEVAGE AVIS 85 du Conseil national de l'alimentation

VAREILLE Sylvie

Conseil National de l'Alimentation 251 rue de Vaugirard - 75015 PÄRIS cedex15,
sylvie.vareille@agriculture.gouv.fr

RÉSUMÉ

L'avis 85 du Conseil National de l'alimentation (CNA) du 8 juillet 2020 présente une réflexion pour une expérimentation d'un étiquetage du mode d'élevage. Il est issu d'un groupe de concertation dont les travaux ont commencé en mars 2019 à la suite d'une saisine interministérielle du Conseil National de l'Alimentation (CNA). Ce groupe de concertation réunissait, outre les membres du CNA, les représentants des associations de la protection animale, de la protection de l'environnement, de l'Ordre et des syndicats vétérinaires et des différentes filières pouvant être concernées par un étiquetage du mode d'élevage. Les travaux du groupe de concertation ont abouti, sans toutefois faire consensus, à recommander une expérimentation s'appuyant sur deux scénarios présentés dans l'avis : un scénario d'expérimentation, limitée à l'étiquetage de certains modes d'élevage sur les segments de qualité (ce scénario est appelé « scénario 1 » dans l'avis) et un scénario d'expérimentation d'une information sur tous les modes d'élevage informant ainsi sur tous les produits d'une même catégorie, s'appuyant sur des référentiels, existants ou non et mobilisant une expertise scientifique spécifique (ce scénario est appelé « scénario 2 » dans l'avis).

Des recommandations ainsi que des conditions de réussite et des points d'alerte sont associés à chacun de ces deux scénarios. Ces éléments ont pour objectif d'éclairer les ministères à l'origine de la saisine pour la mise en place d'une expérimentation d'un étiquetage du mode d'élevage.

ABSTRACT

Reflection for an experiment of a labelling of the mode of rearing

The opinion n°85 of the National Food Council (NFC), adopted on 8 July 2020, presents a reflection for an experiment of a labelling of the mode of rearing. It results from the work of a consultation group, which began on march 2019, following an inter-ministerial referral to the NFC. This consultation group brought together, in addition to the members of the NFC, representatives of animal protection and environmental protection associations, the French Order of veterinarians, the veterinary trade unions and of the various sectors which may be affected by labelling of the rearing mode. The work of the consultation group resulted, yet without consensus, in recommending an experiment based on two scenarios presented in the opinion: a scenario for an experiment, limited to labelling of certain rearing modes on quality segments (this scenario is referred to as "scenario 1" in the opinion) and a scenario for an experiment of information on all modes of rearing, thus informing on all products of the same category, based on reference systems, existing or not and mobilizing a specific scientific expertise (this scenario is referred to as "scenario 2" in the opinion).

To each of these scenarios are associated recommendations, success conditions, and warning points. The objective of these elements is to enlighten the ministers responsible for the referral for the implementation of an experiment on the labelling of the rearing mode.

INNOVATIONS ET NOUVELLES TECHNOLOGIES EN FILIÈRE PONTE POUR ADDRESSER LES DÉFIS ACTUELS

Guyonnet Vincent[1], Maxime Quentin[2]

[1]FFI Consulting Ltd. - 2488 Lyn Road, BROCKVILLE, ON K6V 5T3, Canada
[2]ITAVI - 7, rue du Faubourg Poissonnière – 75009 PARIS, France
Vincent.guyonnet18@gmail.com

RÉSUMÉ

Outre les défis de nourrir une population mondiale croissante et de produire plus à moindre coût, le secteur des œufs est confronté à des enjeux sociétaux tels que l'impact de la production d'œufs sur l'environnement et le bien-être et la qualité de vie des poules pondeuses. Avec des consommateurs plus que jamais éloignés du monde rural, nombre de pratiques sont remises en cause, souvent sans fondement scientifique solide. Le secteur des œufs devra s'appuyer sur l'innovation et l'utilisation de nouvelles technologies pour atténuer les inquiétudes du consommateur. Dans les fermes, l'utilisation de capteurs Internet des objets (IoT), de systèmes vidéo et d'autres outils de l'intelligence artificielle permettra une surveillance continue des animaux et contribuera à leur santé et leur bien-être. Lors de la formulation des rations alimentaires, une composante adressant l'impact des ingrédients sur l'environnement devra être intégrée dans l'approche classique de la formulation à moindre coût. La pandémie de COVID19 a eu deux effets sur les consommateurs : un intérêt accru pour l'impact de la nutrition sur la santé et un regain d'intérêt pour cuisiner à la maison. Les nouveaux produits, que ce soient des œufs en coquille et des ovoproduits, doivent répondre à ces nouvelles exigences du consommateur, avec la facilité d'utilisation, l'aspect santé et la stimulation du système immunitaire comme caractéristiques clés qui résonnent bien auprès des consommateurs. Enfin, il est clair que les consommateurs prennent des décisions importantes, non pas basées sur la science, mais basées sur des émotions et des perceptions. Comme il est peu probable que les preuves scientifiques et les données de terrain atténueront leurs inquiétudes, nous devrons adapter nos messages en conséquence.

ABSTRACT
Innovations and new technologies to address the current challenges in the egg sector

In addition to the challenge of feeding of growing global population and producing more with less return, the egg sector is confronted to societal issues such as the impact of egg production on the environment and the welfare and quality of life of laying hens. With consumers more removed from the rural world than ever, a number of practices are being questioned, often without solid scientific basis. The egg sector will need to rely on innovations and the application of technologies to alleviate the concerns of consumers. On farms, the use of Internet-of things sensors, video system and other artificial intelligence-driven tools will allow a continuous monitoring of birds and contribute to their overall health and welfare. For diet formulation, a component addressing the impact of feed ingredients on the environment will have to be incorporated in the classic least-cost formulation approach. The COVID19 pandemic has had two effects on consumers: a stronger interest in the impact of foods on health and an increased interest in cooking at home. New products, both shell eggs and egg products, must cater to these new consumer demands, with convenience, healthiness and the stimulation of a strong immune system as key features resonating well with consumers. Finally, it is clear that consumers are making key decisions, not based on science, but based on emotions and perceptions. Scientific evidence and field data are unlikely to alleviate their concerns and we must adapt accordingly our messaging.

LES USAGES D'ANTIBIOTIQUES EN AVICULTURE EN FRANCE, EN EUROPE ET DANS LE MONDE : OU EN SOMMES-NOUS ?

Chauvin Claire[1] et Nathalie Rousset[2]

[1] Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané Niort, B.P. 53, 22440 Ploufragan,
[2] ITAVI, Antenne Ploufragan-Rennes, 41 rue de Beaucemaine, 22440 Ploufragan

rousset@itavi.asso.fr
claire.chauvin@anses.fr

RÉSUMÉ

La lutte contre l'antibiorésistance est un défi majeur de santé publique, face auxquels les plans d'actions font unanimement une large place à la promotion de l'usage prudent des antibiotiques.

Un tel objectif nécessite la mise en œuvre d'outils de mesure de cet usage. Ceux-ci se sont largement développés aux échelles internationales, européennes, nationales et privées. Sans être consensuelles, des modalités de mesures harmonisées se mettent en place, permettant les comparaisons entre pays, mais surtout l'étude des progrès accomplis ces dernières années.

Depuis 10 ans, les usages d'antibiotiques en médecine vétérinaire ont été considérablement réduits en Europe. En France, le secteur avicole est particulièrement concerné, avec des cahiers des charges spécifiques qui ont vu le jour. La manière dont la santé et le bien-être animal sont appréhendés et gérés a dû être profondément repensée par tous les acteurs. Outre la génétique, la nutrition, les pratiques vaccinales, la qualité du poussin, les pratiques d'élevage (démarrage, litière, eau, biosécurité), ont été optimisées. Ces évolutions ont été soutenues par des investissements conséquents et de la formation. Des guides de bonnes pratiques de prescription, le renforcement de l'utilisation des examens bactériologiques et antibiogrammes, ont également concouru à ces bons résultats.

Tous ces efforts ont eu de réels impacts sur l'antibiorésistance. Les usages tendent aujourd'hui à se stabiliser, et les enjeux sont à présent de conforter les niveaux actuels, poursuivre les efforts, sans compromettre le bien-être des animaux et des hommes. « Aussi peu que possible mais autant que nécessaire » pourrait être le mot d'ordre des années à venir.

ABSTRACT

Antimicrobial uses in poultry production in France, Europe and the world: where do we stand?

The fight against antimicrobial resistance is a major public health challenge, and action plans unanimously focus on promoting the prudent use of antibiotics.

Such an objective requires the implementation of measuring tools to assess the use. These have been widely developed at international, European, national and private levels. Without being consensual, harmonized measurement methods are being put in place, allowing comparisons between countries, but above all the assessment of progress made in recent years.

Over the last 10 years, the use of antibiotics in veterinary medicine has considerably decreased in Europe. In France, the poultry sector is particularly involved, with "antibiotics free" labels that have been established. The perception and management of animal health and welfare has had to be profoundly rethought by all stakeholders. In addition to genetics, nutrition, vaccination practices, chick quality, rearing practices (young age period, litter, water, biosecurity), have been optimized. These developments have been supported by substantial investments and training. Guidance on good prescription practices and the reinforcement of the use of bacteriological tests and antibiograms have also contributed to these good results.

All the efforts made have had a real impact on antibiotic resistance. Today, the use of antibiotics is tending to stabilize, and the challenge now is to maintain current levels and continue efforts, without compromising the welfare of animals and humans. "As little as possible but as much as necessary" could be the guideline for the coming years.

SESSION

SYSTEMES D’ELEVAGE - MANAGEMENT - BIEN-ETRE ANIMAL

SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT - BIEN ETRE ANIMAL

Communications orales

QUELS SONT LES BESOINS COMPORTEMENTAUX DE L'ESPÈCE *GALLUS GALLUS DOMESTICUS* ?

Laura Warin[1], Maryse Guinebretière[2], Lucille Bellegarde[3], Sophie Brajon[4], Françoise Burgaud[5], Emilie Gregorio[6], Estelle Guérin[1], Elisabeth Le Bihan-Duval[7], Lola Reverchon-Billot[6], Aurélia Warin[6], Cécile Arnould[8]

[1]ITAVI, 37380 NOUZILLY, France
[2]ANSES, 22440 PLOUFRAGAN, France
[3]CIWF, 75010 PARIS, France
[4]ESA, 49000 ANGERS, France
[5]WELFARM, 57006 METZ, France
[6]BANKIVA, 21410 GERGUEIL, France
[7]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France
[8]CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380, Nouzilly, France

warin@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ
La satisfaction des besoins comportementaux est essentielle pour respecter le bien-être des animaux. Cependant, ces besoins sont parfois mal connus des éleveurs et par conséquent mal compris. De ce fait, certains équipements mis en place dans les bâtiments pour améliorer le bien-être des poulets ne répondent pas toujours à leurs besoins comportementaux. Pour que les évolutions du système d'élevage de poulets de chair aient un sens pour leur bien-être, un travail a été mené avec pour objectif de recenser les besoins comportementaux et cognitifs de l'espèce *Gallus gallus domesticus*. Pour répondre à cet objectif, un groupe de 11 scientifiques (INRAE, ANSES, ITAVI, ESA, BANKIVA, WELFARM, CIWF) travaillant sur les questions de bien-être et/ou comportements des poulets a été créé. Ce travail a été mené au regard des connaissances acquises sur la poule domestique (en élevage ou retournée à l'état sauvage) et sur la poule de jungle (en zoo) quels que soient l'âge, le sexe ou la souche génétique des animaux. Le répertoire comportemental de la poule domestique (*Gallus g. domesticus*) est similaire à celui de la poule de jungle et leur motivation à exprimer leurs comportements serait semblable. Dix besoins comportementaux ont ainsi été identifiés et décrits en listant les prérequis nécessaires à leur expression. Cette liste de besoins sera utilisée pour nourrir les réflexions d'un groupe de co-design rassemblant des scientifiques, des acteurs des filières (de l'amont à l'aval) et des membres d'associations de protection animale.

ABSTRACT
What are the behavioural needs of the *Gallus gallus* species?
The satisfaction of animals' behavioural needs is essential for their welfare. However, these needs are not well known and therefore sometimes not fully understood by farmers. Some equipment set up in poultry houses for improving welfare are not necessarily relevant for broilers. The present work aimed at mapping the behavioural needs of *Gallus gallus domesticus* species, a first step prior to the search of solutions to satisfy them. A group of 11 welfare or behavioural scientists (INRAE, ANSES, ITAVI, ESA, BANKIVA, WELFARM, CIWF) was created. Throughout two meetings, the behavioural needs were listed based on the knowledge of domesticated hens and red jungle fowl (in zoos) without any age, gender or genetic strain distinction. The behavioural repertoire of domesticated hen (*Gallus g. domesticus*) is similar to the jungle fowl's one and their motivation to express their behaviour is comparable. Ten behavioural needs were listed and prerequisites for their expression were described. This work will serve as a basis for a codesign group that brings together scientists, stakeholders in the industry (from upstream to downstream) and members from animal protection associations.

INTRODUCTION

La satisfaction des besoins comportementaux est essentielle pour respecter le bien-être des animaux. Comme l'indique l'ANSES (2018), une « *bonne santé, un niveau de production satisfaisant ou une absence de stress ne suffisent pas. […] Le bien-être d'un animal est l'état mental et physique positif lié à la satisfaction de ses besoins physiologiques et comportementaux, ainsi que de ses attentes. Cet état varie en fonction de la perception de la situation par l'animal* ». Cependant, les besoins comportementaux de l'espèce *Gallus gallus domesticus* (poulets de chair et poules pondeuses) ne sont pas toujours bien connus par les éleveurs. Par conséquent, les différents moyens mis en place pour y répondre sont parfois inadaptés pour l'animal. Par exemple, certains types de perchoirs ne sont pas adaptés à la biologie de l'animal (trop haut, forme ne permettant pas une bonne stabilité). Aussi, il est primordial de redonner du sens aux évolutions des cahiers des charges pour les éleveurs en explicitant les besoins des poulets et en proposant des aménagements adaptés. Cela leur permettra d'investir dans des innovations pertinentes car favorables au bien-être de leurs animaux. Pour ce faire, il est nécessaire de définir objectivement ces besoins avec une approche scientifique.

Un travail d'identification des besoins des poulets a ainsi été réalisé par 11 scientifiques travaillant sur les questions de bien-être et/ou comportements de l'espèce (INRAE, ANSES, ITAVI, ESA, BANKIVA, WELFARM, CIWF). Ce groupe rassemble des organismes scientifiques institutionnels, des écoles d'ingénieurs agronomes, un bureau d'expertise indépendant sur le bien-être des animaux d'élevage et des associations de protection animale. L'objectif de ce travail était de recenser les besoins comportementaux de l'espèce *Gallus gallus domesticus* afin d'accompagner l'évolution du modèle de production du poulet de chair standard vers plus de bien-être.

1. QU'EST-CE QU'UN BESOIN ?

D'après l'ANSES (2018), « *Un besoin est une exigence de survie et de qualité de vie liée au maintien de l'homéostasie et aux motivations comportementales. On peut citer par exemple le couchage, l'exploration de l'environnement, les interactions avec les congénères. La non-satisfaction d'un besoin entraîne un état de mal-être et/ou de frustration pouvant induire des perturbations comportementales et/ou physiologiques […] ainsi qu'un accroissement du risque de maladie* ».

Les besoins de manger et de boire, indispensables à la survie immédiate des poulets, ne seront pas présentés dans le cadre de ce travail car ils sont considérés comme étant correctement satisfaits en élevage. De plus, les besoins ont été listés en émettant l'hypothèse initiale que tous les animaux sont soumis à une ambiance saine (température et qualité de l'air adéquates) et à une alternance de phases de jour et de nuit. Le poulet « standard » étant un animal jeune abattu largement avant sa maturité sexuelle, les besoins liés à la reproduction et à la couvaison ont été exclus, car propres aux animaux adultes.

2. COMMENT IDENTIFIER LES BESOINS DE L'ESPECE *GALLUS GALLUS DOMESTICUS* ?

L'identification des besoins de l'espèce *Gallus gallus domesticus* s'est basée sur l'expertise bibliographique des membres du groupe de travail et sur la recherche d'articles scientifiques. Lorsque nécessaire, des ouvrages complémentaires, portant sur le comportement de l'espèce notamment, ont été étudiés par le groupe de travail. Une vingtaine d'articles a été mise à disposition de l'ensemble du groupe. Les recherches se sont concentrées sur des données comportementales obtenues sur des poules domestiques (*Gallus g. domesticus*), vivant en élevages ou retournées à l'état sauvage (poules férales), ou des poules de Jungle (*Gallus gallus*) élevées en zoos, quels que soient leur âge, sexe ou souche génétique (chair ou ponte). Le répertoire comportemental de la poule domestique (indépendamment de la souche) est similaire à celui de la poule de Jungle, l'ancêtre de G*allus g. domesticus*. La grande majorité des comportements exprimés par les poules domestiques assurent encore aujourd'hui la survie (*i.e.* s'alimenter, se reposer dans des zones surélevées), l'adaptation à l'environnement et la qualité de vie, comme c'était le cas pour leurs ancêtres.

Toutefois, la sélection génétique et les modes d'élevage actuels entraînent des modifications du comportement. Ainsi, la sélection sur les critères de production et certaines contraintes d'élevage (comme une forte densité) ont limité de façon importante la capacité physique à exprimer certains comportements (*i.e.,* se déplacer, se percher chez les lignées à croissance forte et rapide), sans supprimer la motivation à les exprimer dans la plupart des cas, ni le bénéfice à les exprimer pour l'individu (*i.e.*, ressentir des émotions positives lorsque ces comportements sont exprimés) (Appleby et al., 2004). De plus, les conditions d'élevage rendent parfois impossible l'expression de certains comportements (*i.e.,* se percher si aucun perchoir n'est accessible) tandis que d'autres comportements s'expriment à mauvais escient du fait d'une inadéquation de l'environnement d'élevage aux besoins des animaux (*i.e.,* les comportements d'exploration redirigés seraient un des facteurs favorisant le picage des plumes). Lorsque les animaux sont motivés pour exprimer un comportement mais que ce n'est pas possible, des

stéréotypies, des comportements apathiques ou des comportements redirigés peuvent apparaître. Ces comportements permettent aux animaux de s'adapter au moins en partie à une situation en agissant plutôt qu'en la subissant et sont révélateurs d'un bien-être compromis d'un point de vue physique et mental. A contrario, l'expression de comportements à forte motivation est source d'émotions (ici définit comme un état interne bref ou durable caractérisé par des réactions comportementales, physiologiques et cognitives en réponse à une stimulation interne ou externe) positives et favorise un bon état physique et mental (Paul et al., 2018). Par exemple, des marqueurs d'émotions positives ont été mis en évidence chez la poule domestique, comme notamment l'expression de davantage de comportements de confort exprimés en anticipation de l'apport de vers de farine (Zimmerman et al., 2011).
Dans la suite de l'article, le terme générique poule sera utilisé pour désigner l'espèce *Gallus gallus domesticus.*

3. LES BESOINS COMPORTEMENTAUX DE L'ESPECE

Au cours de la journée, la poule exprime différents comportements, dont les principaux sont listés dans la Figure 1. La journée démarre lorsque les poules descendent des perchoirs à l'aube et se termine lorsque les poules remontent sur les perchoirs au crépuscule, cette durée varie donc en fonction de la durée du jour. Les valeurs ci-dessous (détaillées par la suite) sont données pour une journée type de 14 heures de jour et 10 heures de nuit.

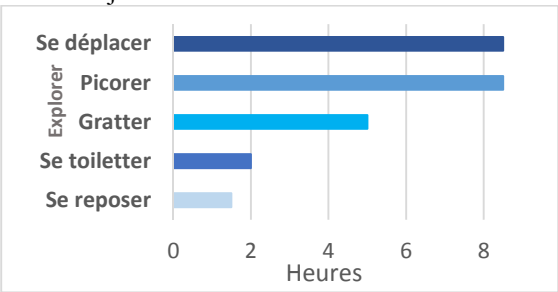


Figure 1 - Durées estimées des principaux comportements exprimés pendant la phase lumineuse (certains peuvent être exprimés simultanément). Certains comportements ne sont pas présentés car leur durée est faible (*ex. battre des ailes, interagir avec les congénères).* Adapté de Dawkins, (1989) et Appleby et al. (2004)

Au total, 10 besoins ont été recensés et sont présentés ci-après (ordre arbitraire). Le rôle de chaque besoin pour le poulet et les conditions nécessaires à son expression en élevage ont été définis. Ces conditions serviront de base à un futur travail, c'est pourquoi aucun seuil n'est détaillé ici.

- **Explorer (exploration de l'environnement et exploration alimentaire)**

Les poules passent jusqu'à 90% de la journée à explorer (env. 8h30 de picorage et/ou 5h de grattage du sol par jour) pour découvrir leur environnement de vie et rechercher / consommer de la nourriture (données sur des poules de jungle ; Dawkins, 1989). Ces comportements leur permettent de mieux appréhender et agir sur l'environnement dans lequel elles évoluent mais aussi de rechercher de la nourriture. Une séquence alimentaire comporte trois phases : recherche de nourriture, manipulation de la nourriture et consommation.
Conditions nécessaires : présence de substrat, alimentaire, ou non, adapté à l'exploration (ex : litière friable, blocs à picorer friables, cordelettes suspendues), milieu diversifié, nourriture variée et diversité des modes de distribution (ex : grains distribués à la volée en plus de l'aliment dans les mangeoires), bec intact et fonctionnel, intensité lumineuse suffisante (bonne vision).

- **Se déplacer *(marcher, courir, voler)***

Les poules passent 60% de la journée à marcher (env. 8h30/jour) (poules de jungle ; Dawkins, 1989). Elles peuvent également courir pour jouer, rejoindre des congénères ou un lieu attractif, ou fuir une situation (ex : échapper aux prédateurs ou à des congénères agressifs). Le comportement de vol est plus rarement exprimé mais permet notamment de monter ou descendre des perchoirs. Tous ces déplacements préservent la santé physique (bonne ossification, pattes en bon état) et mentale des poules, et assurent leur survie. L'activité physique est particulièrement importante pour le bon développement du système musculo-squelettique des jeunes poules. Selon le type de comportement de déplacement, le corps de l'oiseau n'est pas sollicité de la même manière (par ex., le vol sollicite beaucoup plus les ailes et entraîne une plus grande dépense énergétique que la marche). Les différentes modalités de déplacement ont des fonctions complémentaires et l'animal doit donc avoir la possibilité d'exprimer chacune d'entre elles.
Conditions nécessaires : espace permettant de se déplacer librement sans être dérangé par des congénères, intensité lumineuse suffisante pour se repérer dans l'espace, zones surélevées pour se percher en hauteur.

- **Se percher**

Toutes les poules se perchent pendant la nuit et seulement 1 à 10% d'entre elles se perchent pendant la journée (poules de jungle et des poules domestiques respectivement ; Blokhuis, 1984). L'observation de ce comportement se fait donc essentiellement la nuit. Les poules sont vulnérables face aux prédateurs et se reposer en groupe dans des zones surélevées leur procure une protection. Le perchage joue donc un rôle clé dans la survie de

l'animal sauvage et la poule domestique a gardé cette forte motivation intrinsèque. Les perchoirs sont utilisés pour le repos, le sommeil et le toilettage puisqu'ils permettent d'exprimer ces comportements en plus grande quiétude en limitant les perturbations avec les congénères et les agressions.
Conditions nécessaires : structures surélevées, stables et suffisamment larges pour que les poules puissent monter, se maintenir en équilibre et se reposer.

● **Se reposer / Dormir**
Les poules sont des animaux qui recherchent des lieux calmes pour se reposer / dormir la nuit et se reposer pendant une partie de la journée (environ 10% du temps) (poules de jungle ; Blokhuis, 1984 et Dawkins, 1989). Le repos assure la bonne récupération physiologique et mentale du corps, indispensable à la santé et au bien-être de l'animal.
Conditions nécessaires : durée de phase obscure suffisante, respect du rythme chronobiologique (cycles jour / nuit), zones de repos spécifiques calmes qui limitent les dérangements des congénères, permettent de se sentir en sécurité (*i.e.,* zones surélevées, perchoirs, cloisons) et confortables (substrat sec).

● **Étirer ses ailes / pattes - Battre des ailes**
Généralement, après une période de repos ou de toilettage, les poules s'étirent et / ou battent des ailes.
Les poulets Ross 708 s'étirent en moyenne 25 fois par heure (Li et al, 2021). Ce comportement permet d'étirer les muscles et d'améliorer le confort physique. Les battements d'ailes constituent également un moyen de communication lors d'interactions sociales.
Condition nécessaire : espace permettant aux poules de s'étirer et de battre des ailes.

● **Faire des bains de poussière**
Les poussins (de 2-3 semaines d'âge) réalisent des bains de poussière 2 à 3 fois par jour. Cette fréquence décroît ensuite jusqu'à l'âge adulte avec des bains de poussière réalisés tous les 2 jours en moyenne pendant environ 30 minutes, plutôt en début d'après-midi (poules White Leghorn ; Vestergaard, 1982). Ce comportement permet le maintien de la qualité du plumage et de ses propriétés thermo-isolantes, ainsi que l'élimination des éventuels parasites. L'expression de ce comportement suscite particulièrement des émotions positives chez les poules.
Conditions nécessaires : litière adéquate (substrat sec et friable avec de fines particules), espace disponible suffisant (besoin de place pour exprimer la séquence comportementale), espace spécifique limitant les dérangements.

● **Faire des bains de soleil**
Lors des bains de soleil, les poules étendent souvent une patte et écartent leurs ailes dans une zone ensoleillée (Duncan et al., 1998). Tout comme les bains de poussière, les bains de soleil susciteraient des émotions positives chez les poules.
Conditions nécessaires : lumière naturelle directe (par une fenêtre ou à l'extérieur), chaleur, se sentir en sécurité et ne pas être dérangé par des congénères, espace permettant de s'allonger complètement.

● **Se toiletter / S'ébouriffer**
Les poules passent environ 13% de la journée à se toiletter (env. 1h30/jour) (poules de jungle ; Dawkins, 1989). Ce comportement est exprimé majoritairement le matin puis en fin de journée et est également observé la nuit (poules de jungle ; Blokhuis, 1984). Le toilettage assure le maintien des propriétés thermo-isolantes du plumage (pendant le lissage les plumes sont huilées avec des lipides provenant de la glande uropygienne) et permet d'éliminer et de consommer les éventuels parasites (tiques, poux, …). L'ébouriffage joue un rôle quant à lui dans la thermorégulation et dans la communication entre individus (interactions sociales).
Conditions nécessaires : bec intact, plumage non souillé de fientes (litière sèche), zones qui limitent les dérangements des congénères espace spécifique limitant les dérangements, se sentir en sécurité.

● **Interagir avec les congénères *(physiquement, vocalement, visuellement)***
La poule est un animal grégaire qui vit en petits groupes de 5 à 30 individus avec un système social développé (Keeling, 2002). Les poules créent des liens avec leurs congénères, elles ont des affinités différentes selon les individus, un répertoire vocal riche et les animaux isolés émettent des cris d'alarme. De plus, la mère réchauffe et protège ses poussins (poussins sous les ailes) en cas d'alerte, ce qui permet de diminuer leur stress.
Conditions nécessaires : taille de groupe adéquate et stabilité des groupes, espace et structures permettant de s'isoler et de s'éloigner des congénères selon leurs besoins, s'entendre, se voir (identifier les congénères et leurs postures).

● **Jouer**
Le comportement de jeu de la poule n'est pas clairement défini dans la littérature mais il regrouperait des comportements d'interaction sociale, de poursuites et de courses avec un aliment dans le bec (Baxter et al, 2019; Cloutier et al., 2004). Il joue un rôle pour la cohésion sociale. C'est une activité locomotrice qui sollicite les muscles et contribue aux développements osseux, musculaire, articulaire et cérébral. L'expression de ce

comportement susciterait particulièrement des émotions positives chez les poules.
Conditions nécessaires : présence de congénères, espace et matériaux permettant le jeu (*ex. :* paille).

Les 10 besoins comportementaux décrits ci-dessus sont valables pour toutes les poules mais la motivation à les exprimer varie d'un individu à un autre, notamment en raison de sa personnalité.

4. LES BESOINS COGNITIFS DE L'ESPECE

La cognition se rapporte aux processus par lesquels les animaux acquièrent, traitent et mémorisent les informations provenant de leur environnement et agissent en fonction de ces informations (Shettleworth's, 1998 dans Paul et al., 2005). Ces processus permettent aux poules d'apprendre, de comprendre leur environnement, d'anticiper, d'avoir des attentes, ou encore de faire des choix, ce qui est indispensable pour s'adapter à un milieu de vie qui évolue. Ils influencent et sont influencés par les émotions ressenties par les individus.
Les poules sont capables d'apprendre grâce à d'autres congénères (leur mère ou des individus de même âge ou plus âgés) ou par elles-mêmes. Les interactions avec des individus plus expérimentés ou plus âgés aident les poules à découvrir plus efficacement leur environnement et à utiliser toutes les ressources qui s'y trouvent, en intégrant les dangers potentiels et en étant capable de se protéger.
Grâce à ses capacités d'apprentissage, la poule connaît son environnement de vie et forme des attentes envers celui-ci. Lorsque l'environnement est prévisible et que les événements se répètent, l'animal peut anticiper les changements et réagir en conséquence. Par exemple, lorsque l'éleveur frappe à la porte avant d'entrer dans son bâtiment, cela permet aux oiseaux d'anticiper son arrivée et de se déplacer en conséquence s'ils le souhaitent, évitant ainsi d'être surpris ou d'avoir peur. Anticiper des changements de luminosité avant la phase obscure permet aussi à l'animal de se déplacer vers l'endroit où il souhaite s'installer pour la nuit. Anticiper des évènements positifs (*ex. :* aliment très appétant) suscite par ailleurs des émotions positives avant même qu'ils ne surviennent (Zimmerman et al., 2011).
Anticiper les changements et avoir les moyens de réagir face à ces derniers permet aux animaux d'avoir un certain contrôle sur leur environnement, ce qui améliore leur bien-être. Ainsi, une variété de choix possibles permet aux animaux de satisfaire plus facilement leurs attentes qui varient au cours de la journée, ce qui contribue à améliorer leur qualité de vie.

CONCLUSION

Pour atteindre un bon niveau de bien-être sur les plans physique et mental, il est nécessaire de satisfaire les besoins des animaux. La satisfaction de certains besoins favorise plus particulièrement les émotions positives, nécessaires au bien-être de l'animal.
Par définition, il est nécessaire que tous les besoins comportementaux soient pris en compte pour garantir un meilleur bien-être des poulets en élevage. La satisfaction de l'un ne peut pas compenser la non-satisfaction d'un autre. Il est par conséquent impossible de hiérarchiser les besoins comportementaux par ordre d'importance.
L'analyse des pratiques d'élevage permet cependant d'évaluer le niveau de satisfaction des besoins des poulets dans les systèmes actuels afin d'identifier des voies de progrès pour améliorer leur bien-être en élevage. Les résultats de ce travail nourriront les réflexions d'un groupe de codesign qui aura pour objectif de réfléchir à des solutions techniques pour améliorer le bien-être des poulets.

REMERCIEMENTS

Cette étude, réalisée dans le cadre des UMT BIRD et SANIVOL, a été financée par le fonds CASDAR (projet n°20AIP1619988 COCORICO), le CIPC et le SYNALAF.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANSES, 2018. Avis de l'Anses Saisine n° « 2016-SA-0288 »
Appleby, M.C., Mench, J.A., Hughes, B.O., 2004. CABI Pub, Wallingford, Oxfordshire, UK ; Cambridge, MA, USA
Baxter M., Bailie C.L., O'Connell N.E., 2019. Animal, 13(1), 171-179
Blokhuis H.J., 1984. Applied Animal Behaviour Science 12(3), 289-303
Cloutier S., Newberry R.C., Honda K., 2004. Behavioural processes 65: 79-86
Dawkins M.S., 1989. Applied Animal Behaviour Science 24, 77–80
Duncan I.J.H., Widowski T.M., Malleau A.E., Cecilia Lindberg A., Carol Petherick J., 1998. Behavioural Processes 43: 219 – 228
Keeling K.W., 2002. The ethology of domestic animals, an introductory text. CAB International, Wallingford, UK, 101-117
Li G., Zhaoa Y., Porter Z., Purswell J.L., 2021. Animal 15, 100059
Paul E.S., Harding E.J., Mendl M.T., 2005. Neuroscience & Biobehavioral rewiews 29(3): 469-491
Paul E.S., Mendl M.T., 2018. Applied Animal Behaviour Science 205, 202-209

Van Tilbeurgh V., 2017. Actes des Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 12, 5-6/04/17, 11-19
Vestergaard K., 1982. Applied Animal Ethology 8, 487-495
Zimmerman P.H., Buijs S.A.F., Bolhuis J.E., Keeling L.J., 2011. Animal Behaviour 81(3), 569 - 577

EVALUATION D'ENRICHISSEMENTS POUR AMELIORER LE BIEN-ETRE DES POULETS DE CHAIR

Estelle Guérin[1*], Mathilde Stomp[1*], Sophie Brajon[2], Félicie Aulanier[3], Morgane Leroux[4], Laura Warin[5], Isabelle Bouvarel[5]

[1] ITAVI, 41, rue de Beaucemaine, 22440 PLOUFRAGAN, France
[2]ESA, 49000 ANGERS, France
[3]Chambre d'agriculture Bretagne, 22190 PLERIN, France
[4]LIT OUESTEREL, 44300 NANTES, France
[5]ITAVI, UMR BOA, BP1 – 37380 NOUZILLY, France
**Co-auteures principales*

guerin@itavi.asso.fr ; stomp@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Face aux attentes sociétales, la filière avicole souhaite proposer des axes d'amélioration du bien-être des volailles en système claustré tout en maîtrisant les surcoûts économiques. La mise en place d'enrichissements physiques du milieu de vie semble bénéfique au bien-être des volailles. Cinq élevages du Grand-Ouest produisant des poulets de chair Ross308 ou JA987 ont été suivis entre mars et juin 2021 afin d'évaluer les forces et faiblesses d'enrichissements du point de vue de l'animal et de l'éleveur. Les enrichissements visaient à répondre à différents besoins comportementaux tels qu'explorer (blocs à picorer, ficelles, chaînettes, ballots de paille, ballons, sacs de granulés), se percher et se reposer (perchoirs plateformes, linéaires, ballots de paille, panneaux verticaux) et réaliser des bains de poussière (bac). D'une part, des observations comportementales des animaux (scan sampling toutes les 1-mn sur 5-mns et continuous sampling sur 5-mns, deux fois par jour) ont été effectuées et analysées par des tests de Kruskal-Wallis et Mann-Whitney. D'autre part, des entretiens semi-directifs avec les éleveurs ont été menés, analysés via une analyse descriptive thématique. Les enrichissements ont eu un impact sur les comportements des poulets : davantage d'oiseaux exploraient lorsqu'il y avait la présence d'un enrichissement à piquer que lorsqu'il n'y en avait pas (10% d'oiseaux/scan contre 2%, $p<0,05$). Les panneaux verticaux, plateformes, perchoirs en A et ballots de paille ont particulièrement été plébiscités par les poulets pour se reposer. Toutefois, moins de toilettage ont été constatés sur les perchoirs fins (-20% d'oiseaux/scan se toilettent sur les perchoirs linéaires comparativement aux perchoirs plateformes, $p<0,05$). Les poulets semblaient préférer être plus au contact, notamment perchés, des perchoirs à surfaces larges (60% d'animaux au contact de l'enrichissement/scan contre 10% si perchoirs fins, $p<0,001$). Des analyses multicritères ont permis d'identifier des enrichissements à privilégier tels que les ballots de paille, bénéfiques pour les poulets grâce à leur double fonction (perchage et picorage) et les éleveurs (peu couteux, repaillage, pas de nettoyage). Cette étude montre que l'ajout d'enrichissements permettrait de mieux satisfaire, plus ou moins spécifiquement selon leur type, certains besoins essentiels du poulet. Il apparait important d'apporter différents types d'enrichissements pour que les poulets puissent exprimer la totalité de leur répertoire comportemental et ainsi améliorer leur bien-être.

ABSTRACT

In response to societal expectations, poultry industry intends to propose ways to improve poultry welfare in indoor systems while controlling the economic costs. The implementation of physical enrichment in the living environment seems particularly beneficial for the poultry welfare. Five farms in France producing broilers from Ross308 or JA987 strains were monitored between March and June 2021. The goal was to evaluate the strengths and weaknesses of enrichments from the animal and farmer's point of views. The enrichments were designed to meet different behavioral needs such as exploring (pecking blocks, strings, chains, straw bales, balloons, bag of pellets), roosting and resting (platform perches, linear perches, straw bales and vertical panels) and dust bathing (boxes). First, behavioral observations of the animals (1-min scan-sampling for 5-min and 5-min live observation using continuous sampling, twice per day) were performed and analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. Then, semi-structured interviews with farmers were conducted and analyzed by thematic descriptive analysis. Enrichments had an impact on the broilers' behaviour: more animals were seen exploring when there was an enrichment for pecking than when there was nothing (10% of animals/scan against 2%, $p<0.05$). They seemed less stable on thin perches than on platform perches (-20% of animals/scan grooming on thin perches, $p<0.05$) and preferred to perch on large surfaces (60% of animals/scan against 10% if thin perches, $p<0.001$). Multi-criteria analyses based on the interviews and behavioral analysis allowed at identifying suitable enrichments such as straw bales, which were favorable both for broilers due to their dual function (perching and pecking) and farmers (repacking litter). This study shows that some basic needs of broilers are satisfied by the presence of enrichments. It is important to provide different types of enrichments so that broilers can exhibit their full behavioral repertoire and thus have an improved welfare.

INTRODUCTION

Les poulets, comme les autres animaux, ont des besoins comportementaux propres à leur espèce qu'ils expriment au cours de leur journée et de leur vie. Le répertoire comportemental des poulets se caractérise majoritairement par le fait de courir librement, picorer, gratter le sol, interagir avec des congénères, battre des ailes, se toiletter, ou encore se reposer et dormir sans être dérangés (Bessei, 2006). Ces comportements constituent des besoins, c'est-à-dire une exigence de survie et de qualité de vie liée au maintien de l'homéostasie et aux motivations comportementales (ANSES., 2018).

En système d'élevage standard, les poulets sont élevés dans des milieux homogènes qui ne leur permettent pas d'exprimer pleinement leur répertoire comportemental. En effet, l'appauvrissement du milieu ne permet pas la satisfaction de certains besoins, comme le besoin de se percher par exemple et cela est source de frustration. La répétition de la frustration dans le temps aboutit à un état de stress chronique pouvant accroitre le risque de maladie (Bergmann et al., 2017; de Jong et al., 2021).

La mise en place d'enrichissements en élevage s'impose comme une solution pour stimuler les animaux et ainsi répondre aux besoins comportementaux essentiels à leur bien-être (Bergmann et al., 2017; de Jong et al., 2021). De plus, proposer un environnement diversifié aux animaux permet d'avoir un impact positif sur l'état de bien-être général des animaux, leur laissant la possibilité d'avoir plus de choix et de contrôle sur leur environnement (Hoeks et al., 2011).

L'ITAVI a mené un projet mêlant observations comportementales et entretiens semis directifs avec des éleveurs pour évaluer les enrichissements mis en place en élevage de poulets de chair standards. A travers une évaluation multicritères, cette étude visait à proposer les meilleures solutions améliorant le bien-être des animaux et répondant aux attentes de l'éleveur.

1. MATERIELS ET METHODES

L'étude a été menée auprès de 5 éleveurs de poulets de chair standard en Bretagne et Pays de la Loire disposant d'enrichissements innovants. Au total, 12 enrichissements différents ont été étudiés, divisés en quatre grandes catégories en fonction des besoins auxquels ils répondent : explorer (ballot de paille, bloc à picorer, ficelle, ballon, sac de granulés), se percher (perchoirs plateformes, perchoir linéaire sur treuil, sur pieds, perchoirs en A et ballot de paille), faire des bains de poussière (bacs à bain de poussière), se protéger lorsqu'ils sont au repos (panneaux verticaux).

Les animaux observés étaient des poulets de souche Ross308 ou JA987, en élevages commerciaux, élevés à des densités allant de 19 à 22 poulets au m2. Un lot a été suivi par élevage. Plusieurs enrichissements différents étaient présents pour chacun des lots et tous les enrichissements étudiés ont été observés pour les deux souches, exceptés les ficelles, panneaux verticaux et perchoirs linéaires en A uniquement chez la souche JA987.

Chaque visite se divisait en deux étapes successives, un entretien semi-directif avec les éleveurs suivi d'observations comportementales en bâtiments.

Entretiens avec les éleveurs

Les entretiens semi-directif d'une heure en moyenne ont été menés auprès des éleveurs rencontrées dans le but de les laisser s'exprimer et développer librement sur leurs points de vue. Ils ont été menés avant l'observation des animaux pour éviter de biaiser les propos des éleveurs enquêtés. Chaque entretien a été enregistré à l'aide d'un dictaphone pour une meilleure retranscription du discours. Les éléments clés (i.e. *verbatim*, avis donnés concernant le prix, le confort, le nettoyage et le bien-être liés aux enrichissements) de chaque entretien ont ainsi été saisis sous une grille de dépouillement EXCEL® 2019 puis analysés via une analyse descriptive thématique.

Observations comportementales

Des observations du comportement des poulets ont été réalisées par un même observateur, situé à 2 m de la zone comprenant un enrichissement et des zones témoins (*i.e.,* sans enrichissement). Des zones de 1 m de rayon autour du barycentre de l'enrichissement (zone enrichie) (ou d'un point neutre dans le bâtiment concernant les zones témoin) ont été définies, de sorte de pouvoir observer les animaux à la fois au contact direct de l'enrichissement ou simplement au sol, proche de celui-ci. Différents comportements ont été relevés par l'observateur, selon deux méthodes distinctes. Les comportements de bain de poussière, toilettage, secouement, battement des ailes, étirement des pattes, picage agressif et interaction positives ? avec les congénères ont été observés de manière continue pendant 5 minutes selon la méthode *ad libitum*. D'autre part, les comportements explore, debout, au repos ont été observés par la méthode de *scan sampling* (Altmann, 1974), en faisant un comptage du nombre d'animaux exprimant le comportement toutes les minutes pendant 5 minutes. Afin de faciliter les observations, une photographie dynamique a été réalisée chaque minute à l'aide de la fonction « live » d'un téléphone portable (Apple® SE) pour permettre le comptage du nombre de poulets à postériori. Le nombre d'animaux en contact physique avec l'enrichissement a été également comptabilisé à cette occasion.

Les observations ont été effectuées une semaine avant abattage (individus âgés de 28 à 38J selon les élevages, 33±4J) sur des poulets pesant de 1,33 à 2,55 kg (X=2±0.5kg). 2 sessions d'observations (sur deux zones distinctes) ont été réalisées par type d'enrichissement et par élevage, ainsi que pour les zones témoin. Les comportements ont été relevés le matin et l'après-midi de chaque visite.

Statistiques
Les données comportementales récoltées dans cette étude ne suivant pas une loi normale, l'analyse statistiques a été réalisée sous forme de comparaison des rangs à l'aide de tests non paramétriques de Kruskal-Wallis, pour comparer les occurrences moyennes de comportements selon les types d'enrichissement, et de Mann-Whitney, en cas de différence significative pour évaluer les différences entre enrichissements deux à deux, grâce à RStudio®.

Analyses multicritères
Afin d'obtenir une évaluation globale de chacun des enrichissements, une analyse multicritère a été réalisée, basée sur les critères suivants : semble remplir les besoins comportements des poulets (*i.e.* plus de comportements cibles sont observés sur l'enrichissement en comparaison des zones témoins et autres enrichissements), opinion des éleveurs concernant la satisfaction au travail, la pénibilité physique, le coût et les conditions de nettoyage liés aux enrichissements. Cette analyse avait pour objectif de trouver le meilleur compromis pour l'amélioration du bien-être des animaux tout en prenant en compte l'avis de l'éleveur.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Entant donné les faibles effectifs de cette étude (*i.e.* 5 lots, dont un seul lot de JA987), l'effet de la souche, de l'âge ainsi que du poids des animaux n'ont pu être étudiés.

Des différences d'expression des comportements de repos, exploration, toilettage, étirement des pattes et se secoue ont été observées entre les zones témoin et celles comprenant des enrichissements de type repos/perchage (Tests de Mann-Whitney, $0,01<p<0,02$) et exploration ($0,0003<p<0,02$). En revanche, aucune différence significative n'a été noté concernant les comportements de bain de poussière battement des ailes, picage et interactions positives ($p>0,05$), et ce quel que soit les types d'enrichissements. Enfin, aucune différence significative n'a été constaté entre les zones contenant des bacs à bain de poussière et les zones témoins, pour l'ensemble des comportements étudiés ($p>0,05$).

2.1. Permettre le repos et le perchage

La Figure 1 montre que plus d'animaux étaient plus en contact physique (*i.e.* directement perchés ou au contacts des parois au sol) avec les « ballots de paille » et les « plateformes » que les perchoirs en A et linéaires. Ceci peut s'expliquer en partie par la surface plus importante de ces enrichissements, permettant aux animaux d'y être plus nombreux pour s'y percher. De plus, vue la conformation des poulets à croissance rapide, l'accès à des surfaces larges et donc stables, facilité par des rampes à pente douce pour les plateformes, semble favoriser leur équilibre (LeVan et al., 2000). Par ailleurs, les surfaces larges pourraient assurer un repos de meilleure qualité en permettant aux poulets de se réfugier en dehors de la zone de passages de leurs congénères. Elles pourraient également permettre d'offrir aux poulets des zones « d'abris » (*i.e.,* le dessous des plateformes et les côtés des ballots de pailles) pour échapper à des interactions négatives avec des congénères et/ou éviter les dérangements pour un meilleur repos (Cornetto and Estevez, 2001). En effet, en moyenne, 95,3±3,2% des poulets par scan étaient au repos sur les zones contenant des plateformes. Par ailleurs les données montrent qu'il existe une différence significative du pourcentage d'animaux au repos selon le type d'enrichissement présent dans la zone (Test de Kruskall-Wallis khi 2=8,03 ; p=0,04). Toutefois, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence en comparant les enrichissements deux à deux, bien que les zones contenant les panneaux verticaux et les perchoirs en A semblent particulièrement appréciés des poulets pour se reposer (99,1±0,7% et 98,1±0,5% des individus présents dans la zone au repos par scan respectivement, contre 94,9±3,8% pour les perchoirs linéaires et 92,4±4,3% pour les ballots de pailles). De plus, aucune différence significative du nombre d'animaux au repos entre les zones témoins et celles contenant un enrichissement favorisant le repos et le perchage n'a été constatée (Tests de Mann-Whitney, $p>0.05$). S'il est difficile à ce stade de conclure quant à l'effet positif de ces enrichissements sur le repos des poulets, les résultats montrent tout de même qu'un nombre significativement supérieur d'animaux a été observé sur les zones contenant une plateforme (45,6±10,7 poulets) ou des panneaux verticaux (32,3±6,6) comparé aux zones témoin (27,3±11) (Mann-Whitney, $p<0,001$ et $p=0.05$ respectivement), suggérant que ces enrichissements semblent davantage plébiscités par les animaux pour le repos que les zones nues. L'éleveur disposant du système de panneaux confiait avoir observé que ses poulets avaient « *tendance à se coucher contre les panneaux comme ils le font sur les côtés du bâtiment* ».

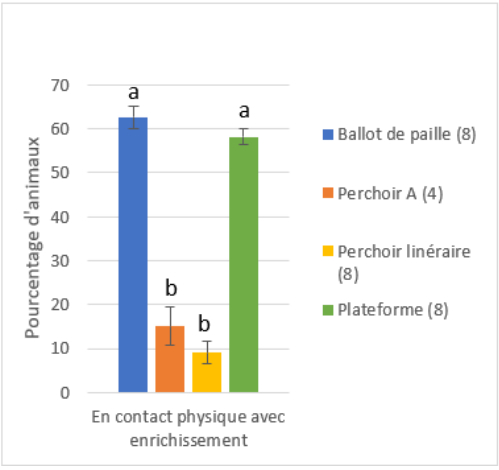


Figure 1 : Pourcentage moyen d'animaux présents dans la zone d'observation étant en contact physique avec l'enrichissement. Deux lettres différentes indiquent une différence significative (tests

de Mann-Whitney, p<0.05). Le nombre de zones observées par condition est indiqué entre parenthèses.

Par ailleurs, la figure 2 montre que les animaux effectuent davantage de toilettage sur 5 minutes sur les zones comprenant des enrichissements à surface larges (ballots de paille ($\bar{X}$=26±2,2 fois) et les perchoirs de type plateformes ($\bar{X}$=30±1,9) que sur les surfaces étroites (perchoirs linéaires ($\bar{X}$=9±2,4) et perchoirs en A ($\bar{X}$=16±2,5)) (Mann-Whitney, p<0,05).

Les perchoirs linéaires et les perchoirs en A, majoritairement utilisés pour une fonction de repos, ne semble cependant pas offrir aux animaux une surface suffisamment large et stable pour se toiletter par rapport aux enrichissement plus larges et même le sol (zones témoins). En effet, les poulets à croissance rapide ont tendance à avoir un faible équilibre et peu de force pour se maintenir en raison du fort développement de leurs pectoraux entrainant un centre d'inertie en avant (LeVan et al., 2000).

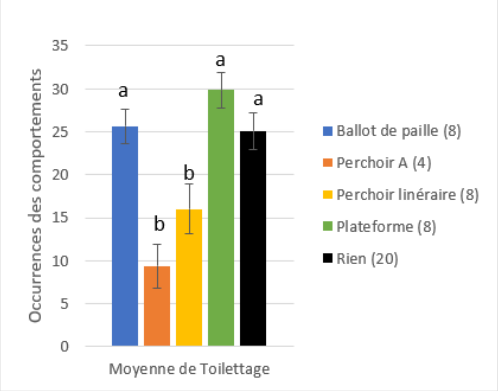


Figure 2 : Occurrences du comportement toilettage en fonction du type d'enrichissement. Deux lettres différentes indiquent une différence significative (tests de Mann-Whitney, p<0,05). Le nombre de zones observées par condition est indiqué entre parenthèses.

Côté éleveurs, les professionnels expriment une certaine satisfaction à voir les plateformes utilisées par les animaux. *« Ça me fait plaisir de les voir perchés, on voit qu'ils aiment ça ». « Au début j'étais un peu sceptique mais au final on peut pas le nier, les poulets ils adorent ça »*. Toutefois, le poids de la structure et son nettoyage représentent les inconvénients majeurs de cet enrichissement. Les ballots de paille sont également très appréciés des éleveurs car ils observent qu'ils permettent de stimuler différents comportements des animaux. Les éleveurs insistent sur le fait qu'il s'agit d'un enrichissement naturel dont ils peuvent utiliser la paille comme substrat de litière une fois les ballots déstructurés par les animaux.

2.2. Stimuler l'activité exploratoire

Concernant les enrichissements à explorer, les oiseaux exploraient significativement plus leur environnement sur les zones présentant un enrichissement à piquer, tout type confondu (*i.e.*, bloc à picorer, ficelle, ballot de paille, ballon, chainette, sac de granulés) (10% d'oiseaux qui explorent/scan) que sur les zones témoins (2% d'oiseaux qui explorent/scan) (Mann-Whitney, p<0,05). Cependant, certains enrichissements semblaient stimuler davantage l'exploration des poulets que d'autres. En effet, la figure 3 montre que les animaux semblent effectuer davantage un comportement exploratoire sur les enrichissements dégradables tels que les ficelles, les ballots de paille » et les blocs à picorer que sur les ballons et les sacs de granulés. Néanmoins, aucun test statistique n'a été réalisé car le nombre de répétition n'était parfois pas suffisant (N<4). Il serait donc nécessaire de répéter l'expérience avec un plus grand échantillon afin de vérifier ces résultats.

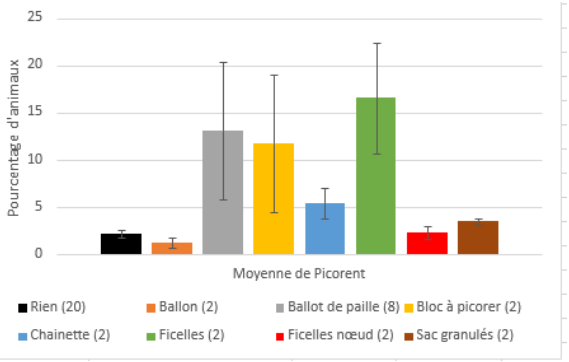


Figure 3 : : Pourcentage d'animaux qui picorent selon le type d'enrichissement présent dans la zone. Pas de tests statistiques effectuées car l'effectif (N < 3) est insuffisant pour effectuer des statistiques. Le nombre de zones observées par condition est indiqué entre parenthèses.

Côté éleveurs, le ballot de paille est l'enrichissement le plus apprécié de par leur double fonction de perchage et d'exploration. Ils expriment ensuite une satisfaction pour les ficelles : « *ça ne me coûte absolument rien et ça fait un enrichissement en plus* », par rapport à des blocs à picorer pour lesquels il est nécessaire de prévoir plus de manutention et qu'il faut acheter à chaque début de lot. D'après un des éleveurs, les ficelles sans nœuds apparaissent particulièrement appréciées des poulets car « *les poulets s'amusent à tirer sur les fibres et les défaire* ».

2.3. Permettre les bains de poussière

Aucune différence significative n'a été observé concernant les occurrences de bain de poussière entre les zones pourvues de bacs prévus à cet effet et les zones témoins (Test de Kruskall Wallis khi 2 = 3.45, p=0.18). Le fait que ce comportement ait tendance à diminuer avec l'âge des animaux pourrait expliquer ce résultat. En effet, en fin de lot la litière ainsi que le substrat présent dans les bacs sont probablement plus souillés qu'en début de lot, or on sait que les poulets effectuent des bains de poussière lorsqu'ils ont accès à un substrat sec et friable avec de fines particules et un espace disponible suffisant afin d'effectuer les mouvements (Hoeks et al., 2011). Globalement, les

éleveurs rencontrés sont quant à eux très satisfaits par la mise en place de ce type d'enrichissement qui est facilement réalisable (encadrement de bois ou bien des petites boites en carton avec du substrat).

Tableau 1 : Evaluation multicritères des différents enrichissements selon leur fonction. Légende : Vert = évaluations positives, critère satisfaisant, Jaune = évaluation moyenne retour moyen, Orange = évaluation négative, entraine une contrainte par rapport à la situation initiale, Gris = enrichissement non gardé d'un lot à l'autre.

		Obser-vations des animaux	Entretiens des éleveurs			
Fonction	Enrichissement	Besoins comportementaux	Satisfaction au travail	Pénibilités physiques	Coût	Nettoyage désinfection
Perchage, repos	Plateforme					
	Perchoir sur pieds					
	Perchoir treuil					
	Perchoir en A					
	Panneaux verticaux					
Perchage, repos, exploration	Ballot de paille					
Exploration	Bloc à picorer					
	Ficelles					
	Sac de granulés					
	Ballons					
	Chainettes					
Bain de pouss ière	Bac à bain de poussière					

Analyse multicritères

Le tableau 1 récapitule les appréciations des différents enrichissements pour l'ensemble des paramètres de l'analyse multicritères. En ce qui concerne les besoins de perchage et de repos, il semblerait que les plateformes, les ballots de paille et les panneaux verticaux soient particulièrement efficaces pour satisfaire les besoins comportementaux des poulets. Toutefois, les plateformes imposent certaines contraintes aux éleveurs sur différents aspects, ce qui entache l'évaluation globale de cet enrichissement. A l'inverse, les panneaux verticaux et ballots de paille remplissent globalement l'ensemble des critères d'évaluation des éleveurs (peu couteux, réutilisables, nettoyage simple). Au vu de ces résultats préliminaires, l'utilisation de ces enrichissements ne peut être qu'encouragée. D'autant plus que les ballots de paille, à l'instar des autres objets friables (*i.e.* ficelles et blocs à picorer), permettent également de stimuler les comportements exploratoires. En revanche, bien qu'appréciées des éleveurs pour leur praticité, les chainettes, tout comme les ballons ou les sacs de granulés sont moins efficaces. Enfin, si les bacs à bains de poussière sont appréciés des éleveurs, ils ne semblent pas remplir leur fonction à un âge avancé des poulets. Un meilleur entretien du substrat de ces bacs pourrait stimuler davantage les animaux. L'efficacité de ces bacs à un âge plus jeune serait par ailleurs intéressante à étudier.

CONCLUSION

Cette étude préliminaire montre que certains enrichissements du milieu de vie permettraient de promouvoir les comportements naturels des poulets de chair en système de production standard et par conséquent satisfaire certains de leurs besoins. Tous les besoins comportementaux des poulets sont importants (Bergmann et al., 2017). Ainsi, pour que les poulets puissent exprimer la totalité de leur répertoire comportemental et avoir un meilleur état de bien-être, il est nécessaire de mixer les objectifs d'enrichissements mis à disposition des animaux (*i.e.*, perchage, repos, exploration, et bain de poussière). En ce sens, le ballot de paille apparaît particulièrement intéressant au vu de sa double fonction qui permet à la fois l'exploration et le perchage des animaux. Par ailleurs, cet enrichissement permet également de satisfaire les attentes des éleveurs.

Globalement, les éleveurs rencontrés affichaient une vision positive de la mise en place des enrichissements dans leurs élevages. Ils mentionnaient tout de même un bémol au niveau de l'aspect économique et de la charge de travail supplémentaire pour certains types d'enrichissement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Altmann J 1974. Observational Study of Behavior: Sampling Methods. Behaviour 49, 227–266.
- Bergmann S, Schwarzer A, Wilutzky K, Louton H, Bachmeier J, Schmidt P, Erhard M and Rauch E 2017. Behavior as welfare indicator for the rearing of broilers in an enriched husbandry environment—A field study. Journal of Veterinary Behavior 19, 90–101.
- Bessei W 2006. Welfare of broilers: A review. World's Poultry Science Journal 62, 455–466.
- Cornetto T and Estevez I 2001. Behavior of the Domestic Fowl in the Presence of Vertical Panels. Poultry Science 80, 1455–1462.

- Hoeks, C., Bokkers, E., Bos, B., de Jong, I., Janssen, A., & Koerkamp, P. G. (2007). Brief of Requirements of the Broiler. Poultry Science, 9, 109-117.
- de Jong IC, Blaauw XE, van der Eijk JAJ, Souza da Silva C, van Krimpen MM, Molenaar R and van den Brand H 2021. Providing environmental enrichments affects activity and performance, but not leg health in fast- and slower-growing broiler chickens. Applied Animal Behaviour Science 241, 105375.
- LeVan NF, Estevez I and Stricklin WR 2000. Use of horizontal and angled perches by broiler chickens. Applied Animal Behaviour Science 65, 349–365.

UTILISATION DE LARVES DE MOUCHES SOLDAT NOIRES POUR AMELIORER LE BIEN-ETRE ET LE COMPORTEMENT DES POULETS DE CHAIR

Pampouille Eva[1], Thomas Chloé[1], Warin Laura[1], Souchet Christophe[1], Guidou Côme[2], Trespeuch Christophe[2], Bernard Jérémy[3], Méda Bertrand[4], Quentin Maxime[5]

[1]ITAVI - L'Orfrasière - 37380 NOUZILLY,
[2]MUTATEC - 84300 CAVAILLON,
[3]INRAE, PEAT - 37380 NOUZILLY,
[4]INRAE, Université de Tours, BOA - 37380 NOUZILLY,
[5]ITAVI – Chambre d'Agriculture de Rennes – 35042 RENNES
pampouille@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ
Les poulets de chair à croissance rapide, souvent confrontés à une stimulation limitée de leur environnement d'élevage, passent la plupart de leur temps inactifs et sont donc susceptibles de souffrir de problèmes de pattes. L'enrichissement de leur milieu de vie peut permettre d'atténuer ces problèmes en encourageant l'expression de comportements naturels et en stimulant l'activité des animaux. L'utilisation d'enrichissements, tels que les larves d'insecte, semble prometteuse car elle pourrait permettre d'augmenter l'activité des animaux, mais peu d'éléments techniques sont disponibles dans la littérature. Un essai expérimental a été mené afin d'étudier l'effet de la distribution de larves de mouches soldats noires (vivantes, LV ou séchées, LS), en complément d'un aliment complet, sur l'activité (animaux en déplacement), la santé et les performances de poulets de chair Ross 308. 1200 poussins tout-venant âgés d'un jour ont été répartis aléatoirement dans 24 parquets et nourris *ad libitum* avec les mêmes aliments entre J0 et J36. A J12, 6 traitements ont été testés : un témoin négatif (T) sans enrichissement ; un témoin positif avec un enrichissement à base de blé entier et quatre traitements avec des LV ou LS distribuées 1 ou 2 fois par jour. Les performances des animaux ainsi que l'état des pattes ont été relevés à chaque transition alimentaire. A J36, l'état général des animaux (blessures, emplumement) a été évalué. L'activité des poulets a été mesurée par *scan sampling* à intervalle de temps régulier à 9 reprises durant l'élevage. L'apport de larves n'a pas eu d'effets négatifs sur les performances et l'état sanitaire des animaux. La consommation alimentaire a été diminuée avec l'apport de LS, améliorant l'indice de consommation de plus de 0,13 points par rapport au lot T. L'apport de LV ou LS a permis d'augmenter l'activité des animaux, mais seulement au moment de leur distribution. Cet effet est d'autant plus important que la fréquence de distribution est élevée, mais ne varie pas en fonction du type de larves. D'autres analyses sont encore nécessaires, notamment pour investiguer l'effet des larves sur les comportements spécifiques (exploration, confort).

ABSTRACT
Use of black soldier fly larvae to improve the welfare and behaviour of broilers
Fast-growing broilers, often faced with limited stimulation from their rearing environment, spend most of their time inactive and are therefore susceptible to leg problems. Enrichment of their living environment can help reducing these problems by encouraging the expression of natural behaviors and increasing animals' activity. The use of enrichments, such as insect larvae, seems promising as it could increase animal's activity, but little technical evidence is available in the literature. An experimental trial was conducted to study the effect of providing black soldier fly larvae (live, LL or dried, DL) as a supplement to a complete feed, on the activity (moving animals), health and performance of Ross 308 broilers. 1200 as-hatched chicks were randomly allocated to 24 pens and fed *ad libitum* with the same diets from D0 to D36. At D12, 6 treatments were tested: a negative control (C) with no enrichment; a positive control using whole wheat as enrichment and four treatments with LL or DL distributed once or twice a day. Animal performance and footpad dermatitis were recorded at each feed transition. At D36, the general condition of the animals (wounds, feathering) was assessed. Broilers activity was measured by *scan sampling* at regular time on 9 occasions during the trial. The larvae supply did not have any negative effects on the performance and health status of the animals. Feed consumption was reduced when DL were fed, improving feed conversion ratio by more than 0.13 points compared to controls. Intake of LL or DL increased animals' activity, but only at the moment of distribution. This effect was greater when larvae were distributed twice a day, but did not vary according to the type of larvae. Further analyses are still required, especially to investigate the effect of larvae on specific behaviors (exploration, comfort).

INTRODUCTION

Les poulets de chair à croissance rapide, souvent confrontés à une stimulation limitée de leur environnement d'élevage, passent la plupart de leur temps inactifs et sont donc susceptibles de souffrir de problèmes de pattes. En effet, les poulets de chair passent environ 70 % de leur temps couchés (de Jong *et al.*, 2018), les niveaux d'immobilisation les plus élevés étant observés à la fin de la période de production. Les pattes des poulets de chair inactifs étant en contact prolongé avec la litière, une litière humide et riche en ammoniac peut entraîner des dermatites de contact (de Jong *et al.*, 2014). Des stimulations dans leur milieu de vie, par l'ajout de balles de paille ou copeaux de bois, de perchoirs/plateformes, d'objets à picorer ou encore un accès à la lumière naturelle par exemple, peut permettre d'atténuer ces problèmes en encourageant l'expression de comportements naturels tels que le repos sur une structure en hauteur, l'exploration, le perchage ou l'activité locomotrice (Riber *et al.*, 2018, de Jong et Gunnink, 2019). Cependant, ces enrichissements ont des effets variables sur l'activité et le bien-être des poulets de chair (Riber *et al.*, 2018, Pederson et Forkman, 2019). L'utilisation de larves d'insectes, qui de tout temps ont fait partie du régime alimentaire des oiseaux, pourrait être un levier prometteur pour stimuler les poulets et ainsi élargir leur répertoire comportemental. Actuellement, peu d'éléments scientifiques et techniques sont disponibles dans la littérature mais les premiers résultats semblent encourageants. En effet, l'apport journalier de vers de farine entiers et vivants, éparpillés dans la litière (de J6 à J18) permet d'augmenter de plus de 50% l'activité et les comportements d'exploration des poulets de chair juste après la distribution (Pichova *et al.*, 2016). Récemment, Ipema *et al.* (2020a, 2020b) ont montré que plusieurs distributions journalières de larves vivantes de mouches soldat noires (7 à 10 fois par jour représentant de 5 à 10% de la matière sèche ingérée), directement dans la litière ou dans un tube perforé, permettait d'augmenter l'activité des poulets de chair tout au long du cycle de production (de J0 à J42). Cependant, une fréquence de distributions et des doses aussi élevées ne semblent pas très réalistes en conditions de production (distribution chronophage et prix très élevé des larves d'insectes). Cette étude visait donc à évaluer, dans des conditions plus en adéquation avec les contraintes en élevage commercial, l'effet de la distribution 1 à 2 fois par jour de larves de mouches soldats noires vivantes (LV) ou séchées (LS) (3 à 7g/jour/poule selon la phase d'élevage), en complément d'un aliment complet, sur le comportement, l'activité, la santé et les performances de poulets de chair Ross 308.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

L'essai a été mené au sein du Pôle Expérimental Avicole de Tours (INRAE PEAT ; DOI : 10.15454/1.5572326250887292E12). Il incluait 1200 poulets de chair ROSS 308 élevés de 1 à 36 jours (600 mâles et 600 femelles). A la mise en place, les poussins de 1 jour ont été répartis aléatoirement dans 24 parquets contenant 50 poulets chacun (25 femelles et 25 mâles) de poids homogènes, répartis dans deux salles. Chaque parquet faisait 6m² dont 5m² de surface utile environ, de manière à ce que la densité dans les parquets soit de 10 poulets/m², facilitant ainsi l'observation des comportements des poulets. Des brises vues ont été installés entre chaque parquet pour éviter les interactions entre les poulets de différents parquets. La litière était composée de copeaux de bois sur une épaisseur de 5-7 cm et chaque parquet contenait une ligne d'abreuvoirs automatiques avec pipettes et deux types de mangeoires : une mangeoire circulaire pour l'aliment et un plateau rectangulaire dédié à la distribution des enrichissements. Les animaux ont été nourris *ad libitum* avec la même gamme alimentaire en trois phases (Démarrage : de J0 à J11, 2873 kcal/kg, 22,2% protéines brutes PB ; Croissance : de J12 à J21, 2980kcal/kg, 20,3% PB) et Finition : de J22 à J36, 3089 kcal/kg, 18% PB).

1.2. Design expérimental

A partir de la phase Croissance (J12) et jusqu'à la fin de l'élevage (J36), 6 traitements ont été testés (4 parquets/traitement) : un témoin négatif (T) sans enrichissement ; un témoin positif utilisant du blé entier comme enrichissement (BLÉ) et quatre traitements avec des LV ou LS distribuées 1 ou 2 fois par jour (LV1 et LS1 *vs.* LV2 et LS2, respectivement). Les traitements LS2, et LV2 ont reçu la moitié des larves le matin à 10h et l'autre moitié l'après-midi à 15h ; les traitements BLÉ, LS et LV1 ont reçu la totalité des larves à 15h. Les quantités de larves à distribuer ont été calculées en considérant 4% de la matière sèche (MS) de l'aliment ingérée théorique et ajustées tous les 5 jours pour suivre la croissance des animaux (de 3g/poulet par jour à J12 à 7g/poulet à J35). La quantité totale d'enrichissement distribuée par jour et par poulet était la même pour chaque parquet, quel que soit le type d'enrichissement et la fréquence de distribution.

1.3. Mesures

1.3.1. Performances zootechniques

La mortalité a été relevée tout au long de l'élevage. Les animaux ont été pesés individuellement lors de chaque transition alimentaire (J12 et J22) et à l'abattage (J36). La consommation et les refus d'aliment ont été mesurés par parquet pour chacune des. Pour les enrichissements, les refus éventuels n'ont pas été mesurés.

1.3.2. Etat sanitaire

Une évaluation des pododermatites a été réalisée à chaque transition alimentaire, lors des pesées individuelles (J12, J22, J36). Elles ont été évaluées sur tous les animaux selon la grille de score ITAVI (1 à 5). Le score 1 représente l'absence de lésions tandis que le score 5 représente l'état le plus sévère, à savoir plus de 50 % du coussinet plantaire lésé. L'état général de tous les poulets a été évalué le dernier jour de l'essai (J36) en prenant en compte : l'état du plumage (présence ou absence de peau nue), la propreté des animaux (bon/ mauvais) et la présence de griffures ou de blessures (présence / absence). Leur capacité à se déplacer a également été évaluée à J36 sur 10 animaux par parquet selon un *gait score* de 0 s'il se déplace sans problème apparent, 1 si le poulet apparait déséquilibré et 2 si le poulet est incapable de réaliser plusieurs pas. L'état sanitaire des animaux a été évalué par quatre évaluateurs expérimentés différents lors de chaque pesée. Seul le *gait score* a été observé par la même personne.

1.3.3. Activité

Les parquets étaient équipés de caméras permettant d'observer la totalité des poulets avec des enregistrements en continu de 7h à 18h. L'activité des poulets (nombre de poulets en déplacement) a été mesuré par scan sampling (enregistrement des comportements discontinus sur un intervalle de temps défini, de l'ordre de quelques secondes, et sur une période d'élevage donnée). Les mesures ont été réalisées à 9 reprises durant l'élevage, avant la distribution des enrichissements à J10, les premiers jours de distribution (J13-J17), puis un jour par semaine (J21, J31 et J35). Pour chaque jour, 7 scans ont été effectués (observation des comportements sur une période de 15 secondes), à intervalle de temps régulier (pendant les distributions de l'enrichissement, 5min après les distributions et 2h avant/après). En parallèle, le temps de latence, définit comme le temps (en secondes) entre la distribution de l'enrichissement et le premier poulet qui arrive dans la zone enrichissement, a été mesuré pour les six premiers jours d'observations pour chacun des traitements afin d'évaluer l'attrait des poulets aux enrichissements. Pour faciliter l'interprétation des résultats de comportement des animaux tout au long de la distribution des enrichissements, trois phases distinctes ont été définies : une phase au début de la distribution des enrichissements qui correspond au démarrage de la phase croissance (J13, J14 et J15) : P1 ; une phase en fin de période croissance (J16, J17 et J21) : P2 et une phase en fin de période finition (J31 et J35) : P3.

1.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à partir de la version 4.1.0 du logiciel R. L'ensemble des indicateurs de comportement issu des scans sampling ainsi que la majorité des données de performances ne suivaient pas les conditions de normalité et d'homoscédasticité en raison du faible nombre de répétitions (n=4), des tests de KruskalWallis (méthode non paramétrique) ont été réalisés. Puis, des tests *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Witney ont été réalisés Pour les indicateurs d'état sanitaire des animaux, des tests de Khi2 ont été utilisés.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances zootechniques

L'apport de larves n'a pas eu d'effet négatif sur les performances des animaux (Tableau 1). En effet, aucune différence significative de mortalité et de poids vif n'a été observée entre les traitements, quelle que soit la période d'élevage. Ces résultats sont en accord avec la littérature, qui montre qu'un apport de larves en faible quantité (< 5% de la MS de l'aliment) n'affecte pas les performances des poulets de chair (Dabbou *et al.*, 2018 ; Lee *et al.*, 2018). En revanche, une plus faible consommation d'aliment a été relevée sur la période de distribution des enrichissements (J12-J36) pour les animaux ayant reçu des LS (LS1 et LS2) par rapport aux traitements T et LV2 (Tableau 1). Ceci se répercute sur l'IC des animaux LS (ne tenant compte que de l'aliment), qui est amélioré de plus de 0,13 points par rapport aux T. Cette différence peut s'expliquer en grande partie par la composition nutritionnelle des larves séchées (3797 kcal/kg MS, 50,1% PB), plus riches en énergie brute et en protéines que le blé ou les LV (2860 kcal/kg MS, 11,0% PB et 1083 kcal/kg, 14,3% PB, respectivement). Pour couvrir leurs besoins, les animaux ayant consommés la totalité des LS ont donc eu besoin de consommer moins d'aliment.

2.2. Etat sanitaire des animaux

De manière générale, l'apport d'un enrichissement en blé ou en larves n'a pas dégradé l'état sanitaire des animaux. Des différences significatives de scores de pododermatites à J36 ont été observées entre les traitements avec notamment plus de score 2 (lésions très légères) pour le traitement LS1 (6% *vs.* 2% pour T, $p<0,05$). Cependant, la grande majorité des animaux ne présentaient pas de pododermatites (>94%) et les lésions observées étaient rares et légères. La faible densité de poulets par parquet ainsi que la quantité de litière mise en place au début de l'essai peuvent expliquer la faible occurrence des pododermatites en comparaison aux taux habituels en élevage (environ 20% pour des animaux élevés sur copeaux). Au niveau de l'emplumement, la présence de zone de peau nue est plus élevée pour le lot T que pour les autres lots (92% *vs.* 97% respectivement, $p<0,05$). Il y a donc potentiellement un lien entre le taux de picage et la distribution d'enrichissement. Cependant, la vitesse d'emplumement n'ayant pas été évaluée dans cet essai, et l'emplumement étant très hétérogène entre les mâles et les femelles Ross 308, il est difficile de valider cette hypothèse.

2.3. Activité des animaux

L'activité des animaux est augmentée par l'apport d'un enrichissement (blé ou larves) quelle que soit la phase d'élevage, mais uniquement aux horaires de distribution de celui-ci (10h et 15h) (Figure 1). En dehors de ces horaires, 2h avant ou après la distribution, l'activité des animaux est similaire entre les traitements (2 à 15% d'animaux actifs, selon l'heure et la phase d'élevage). Parmi les enrichissements, l'apport de LV ou LS à 15h augmente le nombre d'animaux actifs dans la phase P2 de 36 à 48% par rapport au blé, et de 28 à 32% dans la phase P3 (Figure 1b). La différence d'activé entre les animaux recevant du blé ou des larves pourrait être attribuée à la forte motivation des poulets de chair à accéder à des aliments de grande valeur nutritionnelle tels que les insectes par rapport à des aliments de faible valeur nutritionnelle, ce qui les rend relativement plus disposés à se déplacer pour accéder aux larves (Bokkers *et al.*, 2002 ; Pichova *et al.*, 2016). Les deux apports journaliers de larves permettent de stimuler l'activité des animaux à deux reprises dans la journée (Figure 1a et 1b), ce qui est en accord avec des études antérieures qui montraient qu'un accès prolongé aux insectes augmenterait encore plus l'activité des poulets de chair (Ipema *et al.*, 2020a). Cependant, dans notre étude, cet effet reste ponctuel. Le type de larves (LV ou LS) n'influence pas de manière différente l'activité des animaux (Figure 1). En revanche, des temps de latence significativement différents ont été observés entre les traitements durant la phase P1 et P2 ($p<0,05$), quelle que soit la fréquence de distribution. Lors du premier jour de distribution, plus de 90s s'écoulait entre le moment où l'enrichissement était distribué et où le premier poulet arrivait sur la zone pour les traitements BLÉ et LS2 contre moins de 10s pour les LV (1 et 2). A partir du 2ème jour de distribution, il n'y avait plus de temps de latence pour les traitements LV1 et LV2, les poulets attendant la distribution à côté des plateaux. Après 9 jours de distribution, un temps de latence persistait toujours pour le traitement BLÉ uniquement (5s). Ainsi, il apparaît que les poulets recevant des LV s'adaptent plus rapidement à l'enrichissement et cette évolution montre une attirance plus élevée pour les LV que pour les LS et encore le blé. De plus, des refus de blé ont été observés tout au long de l'élevage alors que la totalité des larves (LS et LV) étaient consommées chaque jour.

CONCLUSION

Cette étude a permis de montrer que l'apport de larves séchées ou vivantes dans des conditions applicables en élevage commercial (faible nombre de distributions, quantité de larves distribuée pas trop élevée pour limiter les coûts) permettait d'augmenter l'activité des animaux de manière ponctuelle, sans dégrader les performances de croissance et l'état sanitaire des animaux. Un plus grand attrait pour les larves, notamment vivantes, a également été démontré par rapport au blé. D'autres analyses sont encore nécessaires, notamment pour investiguer l'effet des larves sur les comportements spécifiques (exploration, confort) et l'impact coût/bénéfice. En effet, une distribution des larves directement dans la litière plutôt que dans une mangeoire dédiée, bien que non idéale d'un point de vue sanitaire, permettrait peut-être d'allonger l'effet bénéfique des larves sur l'activité des poulets, en stimulant davantage et plus longtemps les comportements de fouille et de grattage de la litière pour obtenir la ressource. De plus, bien que peu abordable financièrement à l'heure actuelle, ce type d'enrichissement pourrait le devenir avec le développement à large échelle de la production d'insectes, et donc la réduction de leur coût.

REMERCIEMENTS

L'étude s'insère dans le cadre du projet PINHS financé par l'Institut Carnot France Futur Elevage. Les auteurs remercient Patrice Ganier et Florine Pinault (INRAE PEAT) pour le suivi de l'essai en station expérimentale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

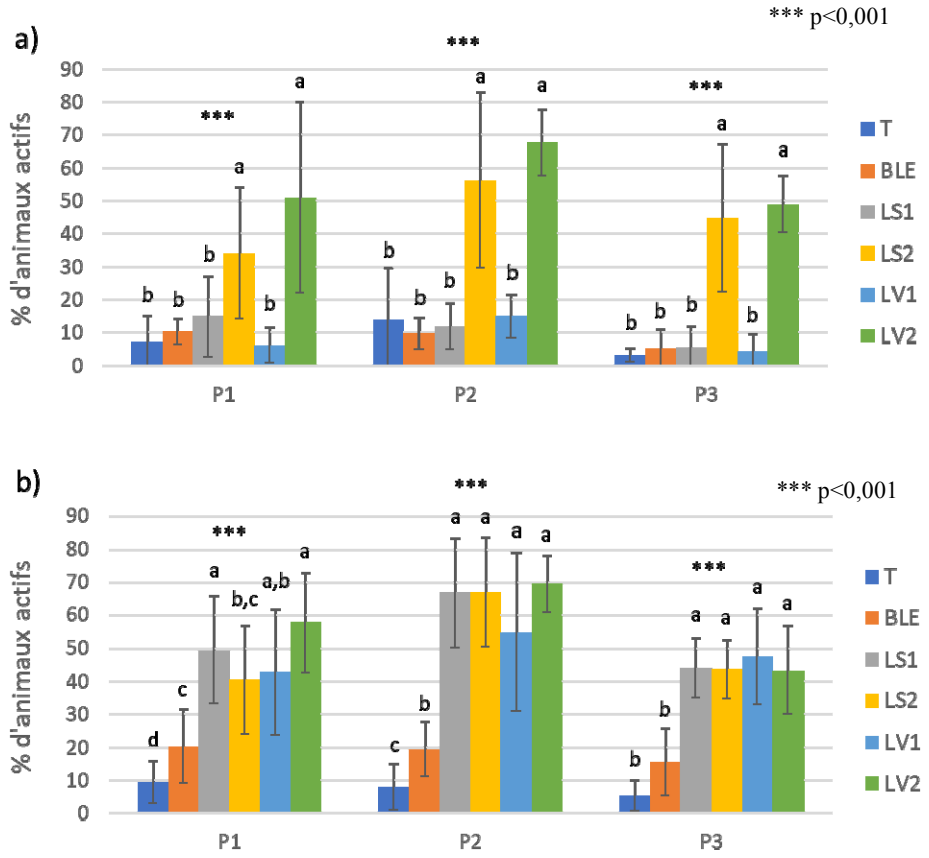
Bokkers, E. A. M. & Koene, P., 2002. Appl. Anim. Behav. Sci. (79), 247–261.
Dabbou S., Gai F., Biasato I., Capucchio M.T., Biasibetti E., Dezzutto D., Meneguz M., Plachà I., Gasco L., Schiavone A., 2018. J. Anim. Sci. Biotechnol. (9), 49.
de Jong, I.C., Gunnink, H., van Harn, J., 2014. J. Appl. Poult. Res. (23), 51–58.
de Jong I.C. and Gunnink H., 2019. Anin. (13), 384-391.
Ipema, A.F., Bokkers, E.A.M., Gerrits, W.J.J., Kemp, B., Bolhuis, J.E., 2020a. Sci. Rep. (10), 17428.
Ipema, A.F., Gerrits, W.J.J., Bokkers, E.A.M., Kemp, B., Bolhuis, J.E., 2020b. Appl. Anim. Beh. Sci. (230), 105082.
Lee J., Kim Y.M., Park Y.K., Yang Y.C., Jung B.G., Lee B.J., 2018. J. Vet. Med. Sci. (80), 736-740.
Pedersen, I.J. and Forkman, B., 2019. Anim Welf. (28), 215–230.
Pichova K., Nordgreen J., Leterrier C., Kostal L., Oppermann Moe R., 2016. Appl. Anim. Beh. Sci. (174), 83-89.
Riber A.B., Van de Weerd H.A., De Jong I.C. and Steenfeldt S., 2018. Poult. Sci. (97), 378–396.

Tableau 1. Performances (moyenne et écart-type) des animaux pour chaque traitement.

	BLE	LS_1	LS_2	LV_1	LV_2	T	P-value
Taux de mortalité (%) J36	2,0 ± 1,6	1,0 ± 1,2	2,0 ± 1,6	0,5 ± 1,0	2,5 ± 3,0	1,5 ± 1,0	0,63
Poids vif moyen J36 (g)	2374 ± 75,9	2415 ± 65,4	2452 ± 23,2	2386 ± 47,5	2455 ± 52,2	2407 ± 41,4	0,18
Gain de poids moyen J12-J36 (g/poulet)	2028 ± 77,4	2067 ± 68,0	2084 ± 20,0	2022 ± 41,7	2094 ± 60,9	2044 ± 52,6	0,28
Consommation alimentaire J12-J36 (g/poulet)	3986^{a,b} ± 60,5	3827^{b} ± 69,6	3863^{b} ± 56,0	3947^{ab} ± 22,4	4058^{a} ± 115,0	4044^{a} ± 55,3	**<0,001**
IC J12-J36	1,97^{a} ± 0,04	1,85^{a} ± 0,04	1,85^{a} ± 0,03	1,95^{a} ± 0,04	1,94^{a} ± 0,03	1,98^{a} ± 0,03	**<0,01**

a,b Les différentes lettres indiquent des différences significatives entre les traitements (p<0.05 ; test de Wilcoxon-Mann-Whitney).

Figure 1. Activité (moyenne des % d'animaux actifs +/- l'écart-type) à 10h (a) et 15h (b) des poulets de chair recevant aucun enrichissement (T), un enrichissement blé à 15h (BLÉ) ou des enrichissements en larves séchées ou vivantes à 15h (LS1 et LV1, respectivement) ou à 10h et 15h (LS2 et LV2, respectivement) selon les périodes P1 (début croissance), P2 (fin croissance) et P3 (fin finition).



a,b,c,d Les différentes lettres au sein d'une phase indiquent des différences significatives entre les traitements (p<0.05 ; test de Wilcoxon-Mann-Whitney).

VALIDATION D'UN SYSTEME DE TRACKING VIDEO INDIVIDUEL POUR DETECTER LES COMPORTEMENTS DES POULETS DE CHAIR EN ELEVAGE

Depierreux Adeline[1], Warin Laura[1], Brunet Henry[1], Concordet Didier[2], Lumineau Sophie[3], Bouvarel Isabelle[1], Créach Pauline[1]

[1]ITAVI (Institut Technique des filières AVIcole, cunicole et piscicole) – 7, rue du Faubourg Poissonnière – 75009 Paris
[2] UMR 1436 INTHERES, INRAe Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – 23, chemin de Capelles, 31076 Toulouse
[3] UMR 6552 Ethologie Animale et Humaine, Université de Rennes 1 - CNRS - Normandie Univ - 263 Avenue du Général Leclerc - 35042 Rennes

creach@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Les comportements exprimés par les individus sont des indicateurs très souvent utilisés pour évaluer le bien-être des poulets de chair. De nombreux travaux s'intéressent aujourd'hui à la possibilité d'utiliser l'analyse d'image pour détecter l'expression de comportements par les animaux. A partir des résultats d'un système de tracking individuel par imagerie, ce travail a pour objectif de vérifier la cohérence entre les comportements exprimés par les poulets quantifiés par un observateur et les données calculées à partir du système de tracking. Pour ce faire, 2 lots de poulets mâles (Ross 308) ont été suivis. Le comportement de 158 poulets a été mesuré (~ 4 jours x 2 intervalles x 20 poulets) pour le lot 1 et le comportement de 80 poulets a été mesuré pour le lot 2 (4 jours x 1 intervalle x 20 poulets).Puis les vidéos ont été analysées, d'une part, directement par un observateur et, d'autre part, automatiquement par traitement d'images (10minutes/poulet à J26, J28, J37, J39). Le temps passé aux abreuvoirs estimé par tracking est corrélé à l'action de boire ($P < 0,001$; $r = 0,62$). Il en va de même pour le temps passé aux mangeoires estimé par tracking et l'action de se nourrir ($P < 0,001$; $r = 0,73$). La durée des périodes d'activité, la distance parcourue et le pourcentage d'occupation de l'espace estimés par tracking sont positivement corrélés au temps passé debout (respectivement : $P < 0,001$; $r = 0,61$ - $P < 0,001$; $r = 0,62$ - $P < 0,001$; $r = 0,44$). Ces résultats soulignent l'intérêt de continuer les travaux de développement d'un système de détection automatique des comportements des poulets de chair. La perspective est d'intégrer ce système dans un outil complet de relevé automatique d'indicateurs de bien-être chez les poulets de chair d'élevages commerciaux.

ABSTRACT

Using an individual tracking system to detect broilers' behaviors in farm

Behaviors expressed by individuals are very often used as indicators for assessing the welfare of broilers. Many studies are currently looking into the possibility of using image analysis to study animal behavior. Using the results of an individual image tracking system, this work aims to verify the consistency between the behaviors expressed by broilers, quantified by an observer and the data calculated from the tracking system. 2 broiler flocks (males, Ross 308) were included in the study. The behaviour of 158 broilers was measured (~ 4 days x 2 time-slots x 20 broilers) for the first flock and the behaviour of 80 broilers was measured for the second flock (4 days x 1 time-slot x 20 broilers). Videos were then analyzed, on the one hand, directly by an observer and, on the other, automatically by image processing. Automatic measures of drinking behaviors are positively correlated to the drinking behavior observed by videos ($p<0.001$; $r=0.62$). The same results is obtained about automatic measures of feeding behaviours and feeding behaviours observed by videos ($p<0.001$; $r=0.73$). The duration of active periods, the total travelled distance and the percentage of used space calculated automatically are positively correlated to the standing behaviour observed by videos (respectively: $P < 0.001$; $r = 0.61$ - $P < 0.001$; $r = 0.62$ - $P < 0.001$; $r = 0.44$). These results underline the interest in continuing the development of an automatic detection system for broiler behavior. The perspective is to integrate this system into a complete tool for automatic recording of welfare indicators in commercial broilers.

INTRODUCTION

La compréhension des comportements des animaux est très importante pour la prise en compte de leur bien-être et l'étude de leurs besoins. Cependant, mesurer le comportement nécessite beaucoup de temps et il peut exister une variabilité entre observateurs. Ainsi, de nombreux chercheurs s'intéressent à la possibilité d'utiliser les nouvelles technologies afin de mesurer le comportement et rendre compte du bien-être des animaux en élevage. L'avantage de ces outils est de permettre des collectes de données en temps réel, non invasives et sans avoir à capturer et équiper les animaux, donc sans causer de stress aux animaux (Wathes et al. 2008) et de manière plus objective et moins chronophage que les méthodes réalisées traditionnellement par un observateur humain (Banhazi et al. 2012).

Il est dorénavant possible d'utiliser l'imagerie numérique afin de suivre l'évolution l'activité des volailles et leur répartition dans le bâtiment, à l'échelle du groupe ou de l'individu (Créach et al. 2019). D'après Pereira et al. (2013), il est également possible d'utiliser l'analyse d'images pour identifier les comportements des poulets de chair comme le toilettage, les étirements ou encore les phases d'inactivité. Toutefois, ces outils demeurent encore au stade de prototypes, et bien que des systèmes se développent (O'Brien et al. 2019), il n'existe pas aujourd'hui de système fonctionnant en élevage commercial et permettant de collecter des informations individuelles pour le calcul d'indicateurs de bien-être.

Le projet EBroilerTrack, piloté par l'ITAVI, vise à développer un tel outil basé sur l'analyse d'image et l'intelligence artificielle pour la détection et le suivi individuel des poulets de chair dans le champ de vision de la caméra. L'objectif du présent travail est de vérifier la cohérence entre les données obtenues grâce à la quantification par un observateur de certains comportements exprimés par les poulets et les données collectées par le système de tracking par imagerie développé dans EBroilerTrack. Il s'agit d'une étape préliminaire nécessaire avant d'entreprendre le développement de cet outil.

1. MATERIELS ET METHODE

1.1. Effectif et conditions d'élevage

L'étude a été réalisée chez un éleveur sur 2 lots consécutifs de poulets de chair mâles (Ross 308) élevés jusqu'à 46 jours d'âge, à une densité de 20 poulets/m² pour le lot 1 et 17 poulets/m² pour le lot 2. Les deux lots ont été élevés successivement dans un même bâtiment d'une surface de 2000 m² avec accès à la lumière naturelle.

1.2. Protocole et échantillonnage

Pour cette étape préliminaire, nous avons choisi de mesurer les comportements dans une situation de bien-être élevé de manière à disposer de données que l'on puisse considérer de référence. L'élevage choisi pour cette étude a été sélectionné pour ses bons scores de bien-être (11 critères sur 12 supérieurs à la moyenne et score moyen de 4/5), évalués grâce à la méthode EBENE® à 29 et 36 jours. Il s'agit d'un système d'évaluation du bien-être en élevage développé par l'ITAVI, basé sur des indicateurs comportementaux, sanitaires, sur les équipements et les pratiques de l'éleveur (Mika et al. 2017). Le bâtiment d'élevage a été préalablement équipé d'une caméra Bascom PRO (3Mpx) fixée au plafond à une hauteur de 3,4 m et reliée à un enregistreur permettant de filmer les poulets en continu sur une portion du bâtiment d'élevage représentant une surface au sol d'environ 22 m² (3,8 x 5,8 m).

Les 2 lots de poulets de chair mâles ont été observés à 4 âges différents (J26, J28, J37, J39). Ces dates permettent de répéter la saisie des données récoltées en milieu (J26-28), ainsi qu'en fin d'élevage des poulets (J37-39), et ainsi de renforcer l'échantillonnage.

Dans le lot 1, pour chacun des jours étudiés, un intervalle de 2 heures a été analysé à un moment de forte activité et un de faible activité de manière à ce que les données relevées soient représentatives de l'activité des poulets au cours de la journée. Le choix de cet intervalle a été réalisé en comptant le nombre de poulets présents aux mangeoires au long de la phase lumineuse qui était de 16 heures car le comportement alimentaire est un fort indicateur d'activité chez le poulet de chair (Bizeray et al. 2004). Lors des périodes de forte activité pour le lot 1, on dénombre en moyenne 58 poulets dans la zone mangeoire sur les 2 heures d'observation, contre en moyenne 51 poulets pendant les périodes de faible activité. Ces périodes ont été choisies en dehors des passages de l'éleveur. Dans le lot 2, pour chacun des jours étudiés, un unique intervalle de 2 heures a été analysé à un moment de forte activité. Pendant l'intervalle de 2 heures, l'analyse des vidéos a porté sur 19 à 20 poulets dont le comportement a été mesuré pendant 10 minutes par un tracking individuel automatique et par un observateur humain au moyen du logiciel The Observer. Les poulets sélectionnés étaient répartis de façon homogène sur la période de 2 heures. Au total le comportement de 158 poulets a été mesuré (~ 4 jours x 2 intervalles x 20 poulets) pour le lot 1 et le comportement de 80 poulets a été mesuré pour le lot 2 (4 jours x 1 intervalle x 20 poulets)

1.3. Observations comportementales

Les vidéos ont été analysées par un observateur à l'aide du logiciel The Observer XT 15.0.1200 (©Noldus). Les observations ont été réalisées par focal sampling pour suivre l'animal en continu

pendant les 10 minutes et relever tous ses comportements. Les variables issues des relevés comportementaux sont présentées dans le tableau 1 (selon le répertoire comportemental adapté de Pereira et al. (2013)).

Tableau 1 : Liste des variables comportementales utilisées lors du focal sampling.

Variables comportementales	Nomenclature
Temps passé aux mangeoires (s)	tps_mangeoire
Temps passé aux abreuvoirs (s)	tps_abreuvoir
Temps passé debout (s)	tps_debout
Temps passé à manger (s)	tps_mange
Temps passé à boire (s)	tps_boit
Temps passé à explorer la litière (s)	tps_explore
Temps passé à se toiletter (s)	tps_toilette
Nombre d'étirements d'ailes/pattes	nb_etirement
Nombre de bains de poussière	nb_bain
Nombre d'interactions positives	nb_intpositive
Nombre d'interactions agressives	nb_intagressive
Nombre de duels (agressif et non agressif)	nb_duel

1.4. Tracking individuel

Le système de tracking individuel par imagerie, sans port de puce ou de tag par l'animal, a été développé en collaboration avec l'INRAe UMR INTHERES et l'ITAVI. Cet outil d'analyse d'image utilise un réseau de neurones convolutif (Faster RCNN) et permet de détecter chaque poulet (Ren et al, 2015). Pour chaque poulet identifié dans le champ de la caméra, le système de tracking fournit les variables présentées dans le tableau 2 pour les 10 minutes d'intérêt (traitement à 10 images par seconde). Les performances de détection et de tracking des algorithmes développés sont décrites dans l'article de Créach et al. 2022 [*in press*].

Tableau 2 : Liste des variables relevées par analyse d'image et tracking individuel.

Variables individuelles	unité	Nomenclature
Temps passé aux mangeoires	s	track.tps.mangeoire
Temps passé aux abreuvoirs	s	track.tps.abreuvoir
Distance parcourue par l'individu	cm	dist.parcourue.cm
Nombre de périodes d'activité		nb_periode.act
Durée des périodes d'activité	s	tps_periode.act
Surface médiane occupée par le corps du poulet	cm²	surface.cm2
Pourcentage d'occupation de l'espace par le poulet	%	X_occupation
Vitesse maximale de déplacement	cm/s	vit.max.cm.s

1.5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R, version 4.0.2 (R Core Team, 2019). Une ACP a été réalisée avec les variables comportementales mesurées lors du focal sampling utilisées comme variables actives et l'ensemble des variables issues du tracking comme variables supplémentaires. La significativité des corrélations a été vérifiée à l'aide de tests de corrélations de Pearson.

Des tests de corrélation de Pearson ont été réalisés. Les variables présentant un coefficient de corrélation élevé ou très élevé ($r \geq 0{,}70$) (Martin & Bateson, 2013) et respectant un seuil de probabilité inférieur à 5 % ont été considérées comme très corrélées. Les variables présentant un coefficient de corrélation modéré ($0{,}40 \leq r < 0{,}70$) et respectant un seuil de probabilité inférieur à 5% ont été considérées comme modérément corrélées. La distribution normale des données et l'homogénéité des variances ont été vérifiées au préalable.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Expression des comportements des poulets mesurés par focal sampling

Au cours des 10 minutes d'observation, les comportements majoritairement exprimés étaient : debout, mange et boit. Parmi les 238 poulets observés sur les lots 1 et 2, 42,9% à 48,7% ont fait l'action de boire ou de manger au moins une fois pendant les 10 minutes d'observation. Les comportements d'étirement, d'exploration, de toilettage et la posture debout ont été exprimé au moins une fois par, respectivement, 57,1%, 76,9%, 82,8% et 97,9% des poulets pendant les 10mns d'observation. Cependant, les durées moyennes d'expression de ces comportements sont très faibles (Figure 1). Parmi les poulets ayant exprimé au moins une fois les comportements cités, ceux-ci sont exprimés pendant en moyenne 6,4 à 22,7 secondes pendant les 10 minutes observées.

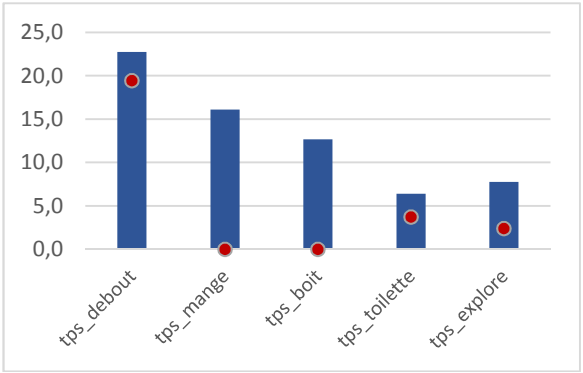


Figure 1 – Durées d'expression des comportements pendant les 10min d'observation (en secondes) : en bleu la moyenne des poulets ayant exprimé le comportement, en rouge la médiane des 238 poulets

Moins de 15% des 238 poulets observés par vidéo ont exprimé des comportements sociaux (duels, interactions positives ou agressives) ou des bains de poussières, et ces comportements étaient exprimés peu de fois (Figure 2). Parmi les poulets ayant exprimés au moins une fois ces comportements, les bains de poussières (nb.bain) sont exprimés en moyenne 8,5 fois pendant les 10 minutes observées. Les autres comportements (nb_etirement, nb_intpositive, nb_intagressive et nb_duel) sont exprimés en moyenne 1 à 2 fois pendant les 10 minutes observées. Le comportement de bain de poussières se distingue des autres car seuls 2 poulets l'ont exprimé avec une forte fréquence.
Ces résultats sont en accord avec les données obtenues chez ces poulets à croissance rapide qui expriment en effet peu de comportements (Weeks et al. 2000 ; Weeks et al. 1994) car la sélection génétique a favorisé les individus les moins actifs (Bizeray, 2001). De plus, les poulets étudiés ici sont des mâles, considérés généralement moins actifs que les femelles (Preston et al.,1983).

2.2. Activité des poulets mesurée par tracking

Les poulets passent plus de temps dans les zones mangeoires et abreuvoirs à 37 et 39 jours qu'à 26 et 28 jours. Les poulets parcourent en moyenne 59,1cm (J37) à 71cm (J39) sur les 10minutes d'observation, et on note entre 5,8 (J37) et 7,3 (J28) périodes d'activité. Ces périodes d'activité sont plus courtes avec une moindre occupation de l'espace à J37 et J39 qu'à J26 et J28. La surface occupée par les poulets est plus importante à J37 et J39 (moyenne de 742,7 cm²) qu'à J26 et J28 (moyenne de 472,6cm²). Enfin, les vitesses moyennes de déplacement des poulets varient entre 8,7 cm/s (J37) à 10,4 cm/s (J39) (Tableau 3).

Tableau 3 : Moyennes et écarts types par variables de tracking pour les 2 lots suivis

Variables	J26	J28	J37	J39
track.tps.mangeoire	8,8 ± 15,5	13,2± 20,3	26,5± 34,8	26,4± 34,3
track.tps.abreuvoir	10,5± 17,9	13,2± 20,3	16,7± 28,6	17,9± 26,2
dist.parcourue.cm	70,6± 50,3	63,7± 30,4	59,1± 29,4	71,0± 36,6
nb_periode.act	6,9± 2,1	7,3± 3,0	5,8± 2,1	6,0± 2,0
tps_periode.act	43,7± 17,0	44,2± 15,3	33,7± 13,7	36,3± 13,5
surface.cm2	456,1± 37,0	489,1± 41,9	729,5± 70,1	755,8± 57,7
X_occupation	4,1± 2,3	4,1± 2,3	2,7± 1,7	3,6± 1,6
vit.max.cm.s	9,2± 4,3	9,4± 5,2	8,7± 3,6	10,4± 4,2

2.3. Des liens identifiés entre données de tracking et comportements mesurés par l'observateur

Les résultats de l'ACP réalisée sont présentés sur le cercle des corrélations de la figure 3 où sont représentées les dimensions 1 et 3 qui expliquent respectivement 19,9% et 12,4% de la variabilité des données. La dimension 2 explique 13,8% de la variabilité des données avec une représentation moins illustrative, c'est pourquoi la dimension 3 a été retenue. La dimension 1 est majoritairement expliquée par le temps que les poulets passent debout, à se nourrir et à se toiletter tandis que la dimension 3 est en majorité expliquée par le temps passé à s'abreuver et à interagir (duel ou interactions agressives).
Le temps passé aux abreuvoirs estimé par tracking est corrélé à l'action de boire ($P < 0,001$; $r = 0,62$). Le temps passé aux mangeoires estimé par tracking est corrélé à l'action de se nourrir ($P < 0,001$; $r = 0,73$).
La durée des périodes d'activité, la distance parcourue et le pourcentage d'occupation de l'espace estimés par tracking sont positivement corrélés au temps passé debout (respectivement : $P < 0,001$; $r = 0,61$ - $P < 0,001$; $r = 0,62$ - $P < 0,001$; $r = 0,44$). Lorsque les animaux se déplacent, ils sont forcément debout, ce qui explique les corrélations obtenues.
Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre les temps passé à explorer ou encore à interagir et les données de tracking. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que ces comportements étant peu exprimés chez les poulets, ils ont été peu observés dans cette étude.

CONCLUSION

Cette étude a permis de montrer qu'il était possible d'identifier des liens entre les comportements observés chez les poulets de chair d'élevage commercial et les données relevées par un logiciel de tracking individuel. En effet, le tracking des individus s'avère être un outil fiable, dont certaines données peuvent être reliées à des comportements, notamment l'action de se nourrir, s'abreuver et également liées à la posture debout des poulets. Cependant cette étude a permis de révéler qu'il n'était pas encore possible de détecter de manière satisfaisante d'autres comportements plus rarement exprimés tels que l'exploration, les comportements de confort ou encore les comportements sociaux. Des travaux sont actuellement en cours afin d'approfondir ces résultats dans des conditions d'élevage enrichies (plateformes et bottes de paille) qui devraient stimuler l'expression de certains comportements. La perspective est de développer un modèle de prédiction de comportements permettant de relever automatiquement des indicateurs de bien-être chez les poulets de chair d'élevages commerciaux.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été conduite dans le cadre du projet Cas Dar recherche technologique 2019 EBroilerTrack, piloté par l'ITAVI en partenariat avec l'INRAe et l'IDELE. Elle a bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture et du CIPC. Les auteurs remercient l'éleveur ayant participé à l'étude et les partenaires du projet.

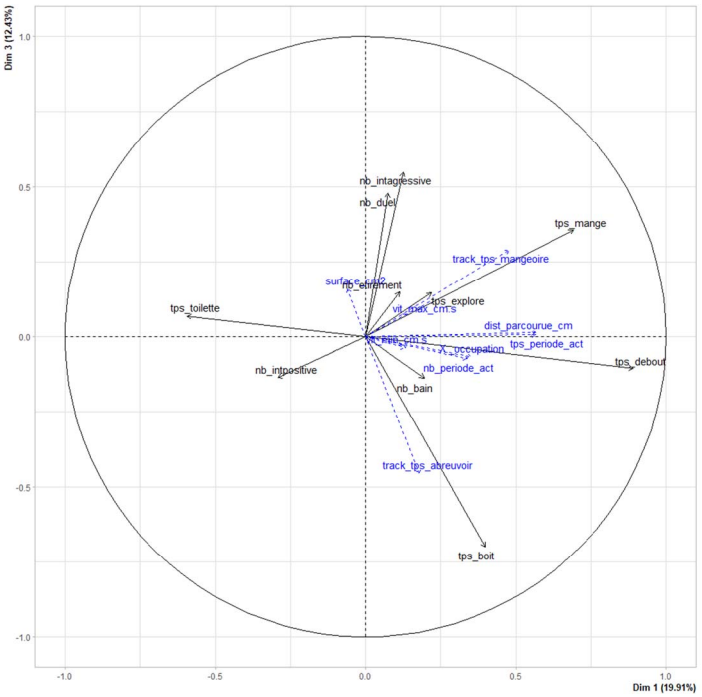


Figure 3 - Graphique de dispersion des variables de l'ACP sur le plan dim1 x dim3. Comportements mesurés par focal sampling en variables actives (noir), données de tracking en variables supplémentaires (bleu).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Banhazi, T. M., Lehr, H., Black, J. L., Crabtree, H., Schofield, P., Tscharke, M. & Berckmans, D. (2012). International Journal of Agricultural and Biological Engineering 5(3), 1–9.
Bizeray, D. (2001). (Doctoral dissertation). Rennes.
Bizeray, D., Leterrier, C., Constantin, P., Le Pape, G., & Faure, J. M. (2002). Behavioural processes, 58(1-2), 45-55.
Bizeray, D., Faure, J. M., & Leterrier, C. (2004). INRAE Productions Animales, 17(1), 45–57. https://doi.org/10.20870/productions-animales.2004.17.1.3552
Créach P., Travel A., Bouvarel I. (2019). Revue TeMa n°51.
Créach.P, Warin L., Bouvarel I., Concordet D., Brunet H. ; 2022. Quatorzièmes JRA-JRPFG, Tours, 09 et 10 mars 2022 [in press]
Martin P., Bateson P., 2013. Cambridge University Press.
Mika, A., Bignon, L., Bonnaud, V., Mindus, C., Picchiottino, C., Souchet, C., Warin, L., Guesdon, V., & Bouvarel, I. (2017). 12èmes JRA-JRPFG, 5 & 6 avril 2017, Tours, France,438-442 ref.8
O'Brien, B., Hennessy, D., & Shalloo, L. (2019). In 9th European Conference on Precision Livestock Farming, Cork, Ireland, 26.-29.08. 2019.
Pereira, D. F., Miyamoto, B. C., Maia, G. D., Sales, G. T., Magalhães, M. M., & Gates, R. S. (2013). Computers and electronics in agriculture, 99, 194-199.
Preston, A. P., Pamment, P., McBride, G., & Foenander, F. (1983, September). Proceedings of the Fifth Australasian Poultry and Stock Feed Convention, Adelaïde, 09/1983, 203-207.
Ren, S., He, K., Girshick, R., & Sun, J. (2015). Advances in neural information processing systems, 28, 91-99.
R Core Team (2019). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
Wathes, C. M., Kristensen, H. H., Aerts, J. M., & Berckmans, D. (2008). Computers and electronics in agriculture, 64(1), 2-10.
Weeks, C. A., Nicol, C. J., Sherwin, C. M., & Kestin, S. C. (1994). Animal Welfare, 3(3), 179-192.
Weeks, C. A., Danbury, T. D., Davies, H. C., Hunt, P., & Kestin, S. C. (2000). Applied animal behaviour science, 67(1-2), 1

SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT- BIEN ETRE ANIMAL

Synthèse

COMMENT LES VOLAILLES PERCOIVENT-ELLES LEUR ENVIRONNEMENT ?

Calandreau Ludovic[1], Ferreira Vitor Hugo Bessa[2], Degrande Rachel[1], Guesdon Vanessa[3]

[1]PRC, CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France
[2]IFM, LINKOPING UNIVERSITY, 58183 Linköping, Sweden
[3]JUNIA, 59 800 Lille, France,
ludovic.calandreau@inrae.fr

RÉSUMÉ

Les capacités cognitives rassemblent l'ensemble des processus mentaux comme l'attention, la mémoire, et les capacités de raisonnement qui permettent à un animal de comprendre et s'adapter à son environnement. Elles sont à la base de très nombreux comportements. Dans cette revue, de façon synthétique, nous ferons tout d'abord un état des lieux des connaissances actuelles sur les capacités cognitives des oiseaux domestiques comme la poule ou le poulet. Nous montrerons que ces oiseaux possèdent un univers sensoriel diversifié, et qu'ils sont capables entre autres d'interactions sociales riches ou encore d'apprentissages. Même s'il reste encore des recherches à mener, ces oiseaux possèdent probablement un répertoire de capacités cognitives bien plus étendu que ce qui est souvent imaginé. Dans une seconde partie, nous illustrerons que ces connaissances apportent une vision nouvelle de notre compréhension de certains comportements observés en élevage comme l'exploration du parcours chez les poulets élevés en plein-air ou encore le picage chez les poules pondeuses. Ces connaissances et ce thème de recherche, qui se développent actuellement de plus en plus au niveau international, contribueront à mieux comprendre la biologie de ces animaux et pourraient, à terme, donner des pistes pertinentes pour favoriser l'adaptation de ces oiseaux à leurs conditions d'élevage et leur bien-être.

ABSTRACT
How do domestic birds process their environment?
Cognitive abilities bring together all of the mental processes such as attention, memory, and reasoning skills that allow an animal to understand and to adapt to its environment. They are the basis of many behaviours. In this review, in a synthetic way, we will first make an inventory of current knowledge on the cognitive capacities of domestic birds, such as hens or chickens. We will show that these birds have a diverse sensory universe, are capable of rich social interactions and of learning, among other capacities. Even if there is still research to be carried out, these birds probably have a repertoire of cognitive abilities much more extensive than what is though. In a second part, we will illustrate that this knowledge brings a new vision of our understanding of certain behaviours observed in farming systems, such as range exploration of free-range chickens, or injurious pecking in laying hens. This knowledge and this research theme, which are currently developing more and more at the international level, will contribute to a better understanding of the biology of these animals and could, in the long term, provide original avenues for promoting the adaptation of these birds to their rearing system and their welfare.

INTRODUCTION

En 2016 puis en 2018, deux expertises scientifiques consécutives, l'une menée par l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA en anglais European Food Safety Authority ; Le Neindre et al. 2017), l'autre pilotée par l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) ont abouti à une nouvelle définition du bien-être animal. Ainsi, le bien-être d'un animal correspond à « l'état mental et physique positif lié à la satisfaction de ses besoins physiologiques et comportementaux, ainsi que de ses attentes. Cet état varie en fonction de la perception de la situation par l'animal ». Cette nouvelle définition qui s'appuie sur des connaissances scientifiques intègre désormais pleinement la notion d'état mental. Le bien-être animal n'implique donc pas seulement une bonne santé physique, il inclut aussi une bonne santé mentale, une notion au premier abord assez abstraite pour un public non scientifique. Par ailleurs, elle pourrait laisser penser que les animaux ont un monde mental similaire au nôtre alors que ce n'est pas le cas. Néanmoins, les connaissances scientifiques actuelles permettent tout de même de dire que les animaux d'élevage, y compris les poules et poulets domestiques, possèdent des capacités mentales qui leur sont propres et que l'on nomme dans un jargon plus scientifique des capacités cognitives. Ces capacités cognitives regroupent un ensemble de processus mentaux (perception, mémorisation, raisonnement, etc.) que l'animal possède et va utiliser pour comprendre et s'adapter à son milieu de vie. L'objectif de cette synthèse est de faire un état des lieux non exhaustif des connaissances sur les capacités cognitives des volailles. Nous nous concentrerons sur des études menées chez les poules et poulets domestiques. Nous montrerons que ces connaissances peuvent être utiles pour davantage comprendre les comportements qu'expriment ces animaux.

1. ETAT DES LIEUX DES CONNAISSANCES SUR LA COGNITION DES POULES ET POULETS DOMESTIQUES.

Une analyse récente de la littérature a montré que près de 200 articles scientifiques publiés entre 1967 et 2017 ont concerné les émotions ou la cognition des oiseaux domestiques comme la poule et le poulet (Freire and Hazel 2017). Nous disposons donc de connaissances désormais relativement importantes sur la cognition de ces animaux. Dans cette première partie nous reprendrons de façon synthétique les données de la littérature sur la cognition des oiseaux domestiques. Ces études illustrent que ces oiseaux partagent avec bien d'autres animaux des capacités sensorielles et cognitives simples. De façon plus surprenante et moins connue, elles révèlent que les oiseaux domestiques sont aussi dotés d'un certain nombre de capacités cognitives relativement sophistiquées.

1.1. Les poules et poulets, comme bien d'autres animaux, ont des capacités sensorielles développées.

Il est maintenant admis que les oiseaux domestiques possèdent des capacités visuelles, auditives, olfactives et tactiles bien développées (pour revue : Nicol 2015 ; Garnham and Løvlie 2018). Leur acuité visuelle est remarquable comme chez la plupart des oiseaux. Par exemple, ils utilisent l'œil droit pour les petits détails alors que l'œil gauche est davantage utilisé pour les informations nouvelles ou les prédateurs. Cette capacité visuelle leur permet de diviser leur attention. Ils peuvent ainsi rechercher de la nourriture dans leur environnement tout en surveillant la présence éventuelle de prédateur. Les poules et les poulets ont aussi, contrairement aux idées reçues, un sens olfactif performant. De nombreuses études ont même montré qu'ils percevaient les odeurs in ovo. Ils perçoivent également les sons, y compris les infrasons que les êtres humains n'entendent pas. Leur bec possède des composants similaires à ceux retrouvés chez le pigeon et qui semblent permettre de détecter les champs magnétiques. Compte tenu de ces connaissances, il apparait que les oiseaux domestiques évoluent dans un univers sensoriel riche et diversifié. Le fait que ces oiseaux possèdent tous ces sens fonctionnels laissent également penser qu'ils ont les capacités de pouvoir traiter, mémoriser voire interpréter tout ou partie des informations sensorielles perçues dans leur environnement social et physique.

1.2. Poules et poulets sont des animaux sociaux qui possèdent une cognition sociale.

La cognition sociale comprend la perception et le traitement des informations concernant les congénères, les interactions entre un individu et les différents membres du groupe. Les capacités cognitives sociales des oiseaux domestiques ont essentiellement été étudiées chez la poule. À l'état sauvage comme à l'état domestique, les poules sont des animaux sociaux qui vivent en groupe, au sein d'une structure sociale complexe et hiérarchisée. Afin de pouvoir évoluer au sein d'une telle structure, elles ont développé des capacités spécialisées (Nicol 2015 ; Dawkins 1993). Dès leur plus jeune âge, les poussins sont capables de se servir des informations sociales pour s'adapter à leur environnement : ils sont capables d'apprendre quel type de nourriture a un effet néfaste, uniquement en observant la réaction d'un congénère qui y a goûté. Un autre exemple est leur capacité à discriminer l'identité des congénères de leur groupe, mais aussi de catégoriser si un individu appartient à un groupe social étranger (Bradshaw and Dawkins 1993). Ces capacités de discrimination ont aussi été

démontrées en conditions contrôlées, en utilisant des stimuli artificiels et selon différents canaux sensoriels (ouïe, vue ; Demello et al. 1993). L'étude des vocalisations des poules a également permis de mettre en évidence leur capacité à communiquer et interagir. Les poules sont capables d'adapter leurs vocalisations en fonction de la situation, de l'individu rencontré ou encore de l'âge de leurs petits. A titre d'exemple, elles émettent des vocalisations d'alarme différentes selon que le prédateur rencontré soit un prédateur terrestre ou aérien.

1.3. Poules et poulets sont capables d'apprentissages.

L'une des capacités d'apprentissage et de mémoire les plus connues chez les oiseaux domestiques est l'empreinte (Lorenz 1935). L'empreinte est une forme de mémoire spécifique qui permet à ces oiseaux d'apprendre et mémoriser les caractéristiques « du 1er objet mobile » qu'ils voient dans leur environnement dans les heures qui suivent l'éclosion (Nakamori et al. 2013). Cet objet mobile peut être leur mère ou presque n'importe quel autre objet. Cette mémoire est telle que si l'objet se déplace, le poussin le suivra automatiquement et exprimera une préférence pour cet objet. Cette mémoire n'implique absolument pas de processus mentaux sophistiqués. Elle s'établit automatiquement. Toutefois, c'est une mémoire qui a la particularité de s'établir très rapidement et d'être très robuste à l'oubli.

Les poules et poulets possèdent bien d'autres formes de mémoire. Des auteurs ont ainsi montré que ces oiseaux possèdent une mémoire spatiale (capacité à mémoriser les informations spatiales qui composent leur environnement) très performante. Il a même été montré que le poussin âgé de quelques jours (Vallortigara et al. 1990) comme le poulet et la poule plus âgés (Ferreira et al. 2020) sont capables de se repérer dans l'espace grâce à deux mémoires différentes. Ils peuvent apprendre à se repérer dans leur environnement en utilisant une mémoire relativement simple dite « indicée », basée sur quelques repères saillants de leur environnement. Ils peuvent aussi utiliser une mémoire plus complexe, basée sur une représentation mentale riche, qui consiste en une carte mentale des nombreux éléments qui composent leur environnement. Ces études montrent ainsi que les oiseaux domestiques ne possèdent pas seulement des capacités cognitives simples, ils semblent aussi dotés de capacités cognitives plus sophistiquées.

1.4. Les oiseaux domestiques ont aussi une cognition élaborée

En utilisant le phénomène d'empreinte mentionné précédemment, des recherches ont montré que les oiseaux domestiques possédaient des capacités cognitives plus étonnantes. Ainsi, le poussin de quelques jours possède une capacité appelée permanence de l'objet. Cette capacité cognitive permet d'intégrer le fait qu'un objet existe même s'il n'est plus dans le champ de vision, ou encore de suivre un objet en mouvement. Plus encore, cette capacité permet d'intégrer l'identité d'un objet même si celui-ci est partiellement occulté ou si l'on ne peut en voir que les contours subjectifs (Regolin and Vallortigara 1995 ; Lea et al. 1996 ; Zanforlin 1981).

Le jeune poussin possède également une compréhension rudimentaire de l'ingénierie structurale : les poussins montrent une préférence spontanée pour des images représentant des objets réels, plutôt que des images dont l'information structurelle est inconsistante (Regolin et al. 2011).

Parmi les capacités les plus étonnantes découvertes chez la poule, une équipe de chercheurs a montré que des poussins, en plus d'être capables de discriminer des quantités, pouvaient réaliser des opérations de calcul mental (Rugani et al. 2009). Dans cette expérience, des objets sur lesquels le poussin a dirigé son empreinte sont placés dans une certaine quantité derrière deux panneaux opaques, et ce à la vue du poussin. Le poussin se dirige automatiquement vers l'écran qui cache le plus d'objets. Puis, lorsque l'expérimentateur déplace un nombre déterminé d'objets d'un écran à l'autre, le poussin réussit à déduire derrière quel écran se cachent le plus d'objets et ce indépendamment de la direction du flux, ce qui n'est possible que par additions et soustractions. La même équipe de chercheurs a remarqué que le poussin classe mentalement les plus petites quantités à gauche et les plus grandes quantités à droite ; ce qui veut dire qu'il possède une ligne mentale numérique (Rugani et al. 2015). Des études ont également montré que les poussins sont capables d'inférence transitive. Cette capacité cognitive est associée à une forme de raisonnement puisqu'elle permet de comparer des informations mémorisées. Ainsi, si on apprend que A est supérieur à B et que B est supérieur à C, nous pouvons en déduire que A est supérieur à C. Des études ont montré que la poule peut utiliser cette capacité d'inférence pour se positionner socialement au sein d'un groupe.

De façon encore plus surprenante, une étude tend à démontrer que les poules seraient capables de métacognition. Cette capacité permet à un individu « d'évaluer mentalement le niveau de ses connaissances ». Des chercheurs de l'université de Kyoto au Japon ont étudié cette capacité chez des oiseaux comme le pigeon mais aussi chez la poule domestique naine (Nakamura et al. 2011). Dans cette expérience, les oiseaux ont d'abord été entrainés, en piquant avec leur bec, à retrouver un rond coloré lorsque celui-ci apparait sur un écran parmi plusieurs autres ronds de couleurs différentes. Lorsque les oiseaux piquent le symbole de la bonne couleur, ils reçoivent une récompense alors que s'ils se trompent, ils n'obtiennent aucune récompense. Une fois que les oiseaux ont été capables d'apprendre cette première

tâche, les chercheurs ont inséré une nouvelle étape. Désormais, deux symboles (un carré orange et un carré violet) apparaissent sur l'écran aussitôt que les oiseaux ont réalisé la tâche des ronds de couleur. Pour obtenir leur récompense, les oiseaux doivent piquer l'un des deux carrés. Si l'oiseau choisit l'orange, il obtient la récompense attendue uniquement s'il a correctement répondu lors de la première tâche avec les ronds de couleur. Piquer sur ce symbole est donc une « prise de risque ». En revanche, si l'oiseau pique le symbole violet, il obtiendra une plus petite récompense qu'il ait ou non réussi la tâche avec les ronds de couleur. Piquer sur le symbole violet est donc associé à la sécurité, la garantie d'obtenir une petite récompense.
De façon remarquable, les résultats montrent que les oiseaux ne répondent pas au hasard lors de cette nouvelle étape. En effet, certains d'entre eux sélectionnent davantage le carré violet (associé à la sécurité) lorsqu'ils ont mal répondu lors de l'épreuve des ronds de couleur. En d'autres termes, ces oiseaux semblent capables d'estimer leur niveau de connaissances. Ils choisissent le symbole « sécurité » quand ils savent qu'ils se sont trompés. Cette expérience révèle donc que les poules domestiques semblent bien capables de métacognition. A ce jour, cette expérience qui est très difficile à réaliser puisqu'elle implique des étapes compliquées, n'a pas encore été tentée par d'autres équipes de recherche chez les oiseaux domestiques. Il est donc important de ne pas sur-interpréter ces résultats. Néanmoins, cette étude et ses résultats invitent à se questionner sur l'étendue des capacités cognitives des oiseaux domestiques.

1.5. Pourquoi les oiseaux domestiques, comme la plupart des animaux, possèdent des capacités cognitives ?

Cette revue synthétique des capacités sensorielles et cognitives chez les oiseaux domestiques illustre que ces oiseaux ont certainement un répertoire de capacités cognitives bien plus étendu que ce que nous pouvions imaginer. Les études qui ont permis de le démontrer ont été, pour la plupart, réalisées dans des conditions contrôlées, en laboratoire, ce qui pourrait laisser penser qu'en nature ou dans les élevages ces oiseaux ne disposent pas de telles capacités cognitives ou ne les utilisent pas. Il faut nuancer cette idée. Les expériences menées ne créent pas les capacités cognitives chez les animaux testés, elles contribuent en revanche à révéler leur existence en posant les questions de façon appropriée. Ces études démontrent clairement que les oiseaux domestiques ne sont pas de simples automates. Ils disposent d'un univers mental qui leur est propre et indispensable pour s'adapter. Ainsi, les poussins sont probablement capables de réaliser des soustractions et des additions de petits nombres car il est important pour ce jeune animal d'être capable de rejoindre, parmi deux groupes d'individus, celui qui est composé du plus grand nombre d'oiseaux. En effet, un poussin de quelques jours ne peut pas encore réguler sa température corporelle. Rejoindre le groupe composé du plus grand nombre lui garantira davantage de profiter de la chaleur des autres. Par ailleurs, un poussin aura moins de chance d'être attrapé par un prédateur s'il est situé au milieu d'un grand groupe de congénères. Enfin, ces oiseaux possèdent probablement les capacités de métacognition évoquées plus tôt car elles permettent d'émettre des réponses en situation de risque, de gérer des situations d'incertitudes qui peuvent survenir. Les capacités cognitives sont essentielles aux animaux pour traiter, mémoriser les informations et événements auxquels ils sont confrontés. Elles constituent des éléments indispensables à leur adaptation, notamment en élevage.

2. L'INTERET DES ETUDES DE COGNITION POUR L'ELEVAGE

Dans la première partie de cette synthèse nous avons montré que les oiseaux domestiques possédaient un certain nombre de capacités cognitives qui leur sont utiles pour percevoir, traiter, mémoriser les informations et événements auxquels ils sont confrontés. Dans cette seconde partie, nous illustrerons que les études de cognition peuvent permettre de mieux comprendre certains comportements de ces oiseaux en élevage.

2.1. Relations entre cognition et exploration du parcours.

Les poulets et poules élevés en plein-air ont accès à une zone située à l'extérieur du bâtiment d'élevage, appelée le parcours. Le parcours est considéré comme une zone d'enrichissement environnemental qui permet aux animaux d'augmenter leur répertoire comportemental, notamment l'exploration. Plusieurs études ont montré que l'utilisation du parcours extérieur peut dépendre d'un certain nombre de facteurs comme la saison, le moment de la journée, la présence d'un couvert végétal ou encore l'origine génétique, le sexe, l'âge des animaux (Pettersson et al. 2016 ; Bestman et al. 2019 ; Campbell et al. 2020a). Toutefois, ces facteurs n'expliquent pas pourquoi, au sein d'un même élevage, il demeure toujours une variabilité importante entre les individus dans l'utilisation du parcours extérieur. En effet, certains individus exploreront très souvent les zones les plus éloignées du parcours alors que d'autres resteront à proximité de leur bâtiment d'élevage (Gebhardt-Henrich et al. 2014 ; Taylor et al. 2017 ; Larsen et al. 2018 ; Taylor et al. 2020). Cette différence de comportement suggère que l'utilisation du parcours peut dépendre de l'individu lui-même, de la façon dont il perçoit, traite et mémorise les informations de

son environnement, en d'autres termes de ses capacités cognitives. Pour tester cela, des poulets ont été soumis à un test qui est fréquemment utilisé chez d'autres espèces pour évaluer leur capacité à s'adapter rapidement aux situations qu'ils rencontrent. Ce test se déroule en deux temps. Dans un premier temps, les animaux sont entrainés à contourner un tube opaque pour récupérer de la nourriture placée à l'intérieur. Dans un second temps, la nourriture est placée à l'intérieur d'un tube qui ne sera plus opaque mais transparent. Les animaux doivent alors refreiner leur envie première de picorer la paroi transparente du tube pour récupérer la nourriture. Ils doivent faire preuve de flexibilité et utiliser ce qu'ils ont appris lors de la première étape : contourner le tube pour récupérer la nourriture. Les résultats de cette expérience montrent que des poulets, dont le comportement d'exploration du parcours a été observé et suivi et qui font partis de ceux qui explorent peu le parcours obtiennent de meilleurs scores que les individus qui explorent beaucoup le parcours (Ferreira et al. 2020). Ce résultat semble plutôt contre-intuitif, dans la mesure où les poulets les moins explorateurs sont ceux qui font preuve d'une plus grande flexibilité cognitive que ceux qui explorent beaucoup le parcours. Toutefois, ils confortent d'autres études qui montrent que les poulets les moins explorateurs ont aussi des capacités de mémoire spatiale meilleures que les poulets les plus explorateurs (Ferreira et al. 2019). Globalement, les résultats de ces expériences suggèrent que les poulets les moins explorateurs traiteraient plus finement les informations de leur environnement, les mémoriseraient mieux. Ce profil cognitif pourrait leur conférer une plus grande flexibilité cognitive. Il pourrait également guider leurs décisions et inhiber leur motivation à explorer un parcours extérieur. Des études similaires menées chez la poule tendent à montrer des résultats inverses (Campbell et al. 2020b). Les poules les plus exploratrices du parcours posséderaient de meilleures performances de mémoire spatiale. Ces résultats soulignent qu'on ne peut pas généraliser les résultats obtenus dans ces recherches qui sont très récentes. Toutefois, ces études illustrent qu'il existe un lien entre cognition et exploration du parcours. Elles indiquent que les études de cognition pourraient, à terme, apporter de nouvelles connaissances sur la biologie de ces oiseaux, utiles pour mieux comprendre leur comportement. Ces connaissances pourraient permettre d'adapter leur milieu de vie d'élevage pour que celui-ci couvre les besoins de tous les individus malgré leurs différences.

2.2. Relations entre cognition et picage.

Le picage est un comportement naturel chez les poules. Elles picorent le sol lorsqu'elles cherchent de la nourriture ou prennent des bains de poussière, et elles se donnent également des coups de becs entre elles. Des coups de becs légers peuvent avoir une valence positive dans le cadre du toilettage social. Mais le picage peut aussi être agressif lorsque les poules montrent leur dominance et établissent une hiérarchie. Cependant, lorsque le picage est fréquemment dirigé vers la peau et les plumes d'autres individus, il peut devenir un problème majeur de bien-être. Ce comportement est appelé picage sévère. La complexité du picage réside dans son caractère multifactoriel (Coton et al. 2019). Jung et Knierim (2018), dans une revue récente d'études expérimentales et épidémiologiques, ont trouvé au moins 62 facteurs qui peuvent augmenter significativement le risque de développer du picage. Toutefois, des études ont démontré qu'une petite proportion d'individus semble responsable de la propagation du picage dans un groupe donné (Rodenburg et al. 2004). Ces résultats suggèrent donc que le picage pourrait, en partie au moins, dépendre de l'individu et de la façon dont celui-ci perçoit son environnement et les événements qui s'y déroulent. Des études vont dans ce sens et démontrent un lien entre le picage et les capacités d'apprentissage social des individus. Dans une expérience, Cloutier et al. (2002) ont montré que des poules qui avaient pu observer d'autres individus piquer un modèle de poule inanimé, reproduisaient davantage ce comportement par rapport à des poules naïves. De façon similaire, Zeltner et al. (2000) ont observé que le picage se développe et augmente significativement plus dans des groupes de poussins qui contiennent quelques poussins présentant des fréquences de picage élevées. Si le picage nécessite en partie un apprentissage, d'autres études suggèrent que les poules pourraient aussi apprendre à réprimer ce comportement. Une série d'expériences élégantes confirme cette possibilité : les poules qui ont été exposées et conditionnées à des plumes trempées dans une solution de quinine (avec un goût amer, désagréable) ont montré un picage nettement moins sévère lorsqu'elles étaient en groupe (Harlander-Matauschek et al. 2008). De la même façon, l'application de quinine (solution amer) sur les plumes des animaux, dès la première semaine après la naissance jusqu'à leur première ponte, réduit le picage sévère. Cependant, une fois que ce traitement a été arrêté, ces mêmes oiseaux ont montré un picage sévère au moment de la période de ponte suivante, et ce à des niveaux plus élevés qu'à la période de ponte précédente (Harlander et al. 2010) Enfin, des études de comportement, de physiologie ou de neurobiologie menées sur des poules sélectionnées sur leur propension à piquer montrent que le picage sévère pourrait s'apparenter à des désordres cognitifs ou cérébraux proches de ce qui est observé dans les pathologies liées à l'hyperactivité (Kjaer et al. 2015). En particulier, le picage sévère mettrait en jeu des modifications du fonctionnement d'un système de neurotransmission dans le cerveau des animaux qui est connu pour être impliqué dans des processus

cognitifs tels que l'attention ou la mémoire, le système dopaminergique. Ainsi, ces expériences apportent de nouvelles connaissances sur le comportement de picage qui est à l'origine d'importantes altérations du bien-être chez la poule. Ce comportement semble bien mettre en jeu des processus cognitifs dont les mécanismes sont encore loin d'être élucidés. Des études sur ces processus cognitifs permettront de mieux appréhender ce comportement et pourraient déboucher, à terme, sur des pistes nouvelles permettant de réduire l'apparition du picage.

CONCLUSION

La cognition est un domaine vaste et il reste encore beaucoup à découvrir concernant le répertoire des capacités cognitives chez les oiseaux domestiques, leur ontogenèse, etc. Ces connaissances sont essentielles pour mieux comprendre la biologie de ces oiseaux, leur univers mental et proposer des systèmes d'élevage adaptés aux différents profils d'animaux présents au sein d'un élevage. Ces connaissances pourraient aider au développement de conditions d'élevage bénéfiques au bien-être physique mais aussi mental des animaux. En effet, les capacités cognitives, qui permettent aux animaux de se représenter mentalement ce qu'ils vivent, ce qu'ils ressentent sont au cœur de leur santé mentale. Des enrichissements occupationnels, basés sur les capacités cognitives, pourraient ainsi constituer des leviers efficaces pour stimuler les animaux et contribuer à leur bien-être. En effet, contrairement aux traditionnels enrichissements physiques, les enrichissements cognitifs semblent être moins sujet au phénomène d'habituation, à une perte d'intérêt. Ils pourraient donc contribuer de manière plus efficace au bien-être.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bestman, M., C. Verwer, T. Van Niekerk, F. Leenstra, B. Reuvekamp, Z. Amsler-Kepalaite, and V. Maurer., 2019. Applied Anim. Behav. Sci. (214), 57–63

Bradshaw, R. H., & Dawkins, M. S., 1993. Behav. Processes, (283), 165-172

Campbell, D. L. M., Bari, M. S., and Rault, J.-L., 2020a. Anim. Prod. Sci., (61), 848-855

Campbell, D. L. M., Dyall, T. R., Downing, J. A., Cohen-Barnhouse, A. M., and Lee, C., 2020b. Front. Vet. Sci., (7), 1–14

Cloutier, S., Newberry, R. C., Honda, K., and Alldredge, J. R., 2002. Anim. Behav., (63), 1153–1162

Coton, J., Guinebretière, M., Guesdon, V., Chiron, G., Mindus, C., Laravoire, A., Pauthier G., Balaine L., Descamps M., Bignon L., HUneau-Salaün A., and Michel V., 2019. Br. Poult. Sci., (60), 617–627

Dawkins, M. S. 1993. In Oxford: Oxford University Press.

DeMello, L. R., Foster, T. M., & Temple, W., 1993. J. Exp. Anal. Behav., (603), 595-609

Ferreira, V. H. B., Barbarat, M., Lormant, F., Germain, K., Brachet, M., Løvlie, H., Calandreau L., and Guesdon, V., 2020. Anim. Cogn., (234), 769-780

Ferreira, V. H. B., Peuteman, B., Lormant, F., Valenchon, M., Germain, K., Brachet, M., Leterrier C., Lansade L., Calandreau L., and Guesdon V., 2019. Behav. Processes (166), 103-88

Ferreira, V. H. B., Reiter, L., Germain, K., Calandreau, L., and Guesdon, V., 2020b. Biol. Lett. (16), 20190721.

Freire, R., and S. J. Hazel., 2017. Anim. Sent. 2(17), 1–4

Garnham, L., & Løvlie, H., 2018. *Behavioral Sciences*, *8*(1), 13

Gebhardt-Henrich, S. G., M. J. Toscano, and F. Ernst., 2014. Appl. Anim. Behav. Sci. (155), 74–81

Harlander Matauschek, A., Beck, P., and Rodenburg, T. B., 2010. Appl. Anim. Behav. Sci. (127), 108–114

Harlander-Matauschek, A., Wassermann, F., Zentek, J., and Bessei, W., 2008. Poult. Sci. (87), 1720–1724
Jung, L., and Knierim, U., 2018. Appl. Anim. Behav. Sci. (200), 1–1
Kjaer, J. B., Würbel, H., & Schrader, L., 2015. Appl. Anim. Behav. Sci., (168), 56-6
Larsen, H., P. H. Hemsworth, G. M. Cronin, S. G. Gebhardt-Henrich, C. L. Smith, and Rault J.L., 2018. Animal 12(11), 2356-2364
Le Neindre, P., Bernard, E., Boissy, A., Boivin, X., Calandreau, L., Delon, N., Deputte, B., Desmoulin□Canselier, S., Dunier, M., Faivre, N., Giurfa, M., Guichet, J., Lansade, L., Larrère, R., Mormède, P., Prunet, P., Schaal, B., Servière, J., Terlouw, C., 2017. Animal consciousness. EFSA Supporting Publications, 14 4. - EN-1196. GBR: John Wiley Sons Ltd.
Lea, S. E., Slater, A. M., & Ryan, C. M., 1996. Infant Behav. Dev., (194), 501-504
Lorenz, K., 1935. J. Ornithol. (83),137-213
Nakamori, T., Maekawa, F., Sato, K., Tanaka, K., Ohki-Hamazaki, H., 2013. Dev. Growth Diff. (55), 198-206.
Nakamura, N., Watanabe, S., Betsuyaku, T., & Fujita, K., 2011. Anim. Cogn., (141), 83-93
Nicol, C. J. 2015. The behavioural biology of chickens. CABI.
Pettersson, I. C., R. Freire, and C. J. Nicol., 2016. Poult. Sci. J. 720(1), 137–150
Regolin, L., & Vallortigara, G., 1995. Percept. Psychophys., (577), 971-976
Regolin, L., Rugani, R., Stancher, G., & Vallortigara, G., 2011. Biol. Lett., (75), 654-657
Rodenburg, T. B., Van Hierden, Y. M., Buitenhuis, A. J., Riedstra, B., Koene, P., Korte, S. M., Van der Poel J.J., Groothuis H.J., and Blokhuis H.J., 2004. Appl. Anim. Behav. Sci. (86), 291–29
Rugani, R., Fontanari, L., Simoni, E., Regolin, L., & Vallortigara, G., 2009. Proc. Royal Soc. B., (276)1666, 2451-2460
Rugani, R., Vallortigara, G., Priftis, K., & Regolin, L., 2015. Science, (347)6221, 534-536
Taylor, P. S., P. H. Hemsworth, P. J. Groves, S. G. Gebhardt-Henrich, and J.-L. Rault., 2020. Animal (14)1, 138–149
Taylor, P., P. Hemsworth, P. Groves, and J.-L. Rault., 2017. Animals (7), 12-55
Vallortigara, G., Zanforlin, M., & Pasti, G., 1990. J. Comp. Psychol., (104)3, 248-254
Zanforlin, M. 1981. Italian Journal of Psychology, (8)1, 1-16
Zeltner, E., Klein, T., and Huber-Eicher, B. ,2000. Anim. Behav. (60), 211–216

SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT - BIEN ETRE ANIMAL

Communications orales

Modélisations tri-dimensionnelles des vitesses d'air au niveau des poulets de chair en cas de fortes chaleurs

Yann Guyot[1], Saliou Cissé[1], Maxime Quentin[1]

[1]ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonière, 75009 Paris, France
guyot@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Le changement climatique a pour conséquence une multiplication des coups de chaleur qui risque, à terme, de remettre en question le bien-être et la santé des volailles et rend cruciale la bonne gestion de l'ambiance dans les poulaillers. Il est possible de refroidir les animaux via des vitesses d'air importantes. En effet, la température ressentie (ou température effective) est la combinaison de la température ambiante (dite sèche), de l'humidité et de la vitesse de l'air autour des animaux. Les deux premières composantes soient des mesures simples à obtenir. Il est néanmoins assez délicat d'estimer les vitesses d'air au niveau des animaux, d'autant plus que ces dernières peuvent varier en fonction du poids vif et de la densité. La simulation tri-dimensionnelle de type computational fluid dynamics (CFD) dans des configurations de bâtiments de référence offre une solution intéressante pour préciser les flux d'air et mieux appréhender leur distribution et leur magnitude. Dans un premier temps des pré-simulations ont été réalisées afin de déterminer les paramètres physiques qui permettent de modéliser la couche animale comme un milieu poreux (venant freiner l'air). Par la suite, deux bâtiments représentatifs du parc français comprenant une ventilation par extraction latérale ou longitudinale ont été réalisés en 3D. A 100% de fonctionnement du matériel de ventilation (forte chaleur), les résultats de simulations démontrent de plus grandes vitesses d'air moyennes et de plus grandes variabilités pour les bâtiments à extraction longitudinale que pour ceux à extraction latérale. Enfin, les simulations ont permis de construire des lois de réponse associant la distribution des températures ressenties dans un bâtiments type en fonction du poids vif et de la densité.

ABSTRACT

Three-dimensional modeling of air velocity at broilers level in case of intense heat

With global warming, frequences and intensity of heat stress events will be detrimental for broilers health and welfare. A good managment of environment in broilers house is crucial to tackle this issue. An efficient way for cooling down animals is by exposing them to relatively high air velocities. Indeed, the effective temperature is the combination of dry bulb température, relative humidity and air velocity. Although the first two are conviniently collectables, air velocities at animals level can be tricky to estimate, especially since it varies with body weight and density. Computational fluid dynamics (CFD) simulations are an efficient tool to apprehend air streams distribution and magnitude. As a first step, pre-simulations have been conducted in order to estimate the parameters to model the animal occupied zone as a porous media. In a second step, two representative configurations of typical french broiler houses have been designed. These configurations differ from their ventilation modes. At one hundred percent of air extraction, lengthway systems show a higher average air velocity and variability than crosswise systems. Afterwards, response laws relating broiler house type, body weight and animal density to air velocity distribution at animal level has been constructed.

INTRODUCTION

Les fortes chaleurs peuvent avoir plusieurs conséquences sur les volailles de chair, allant de l'inconfort et la réduction de l'ingéré et donc du gain de poids à une mortalité accrue (Le Douarin, 2020a). De surcroît, la multiplication des épisodes caniculaires dus au changement climatique tend à aggraver le problème. Une bonne gestion de l'ambiance (température, humidité et vitesse d'air) peut permettre de réduire la température ressentie par les animaux et donc limiter les coups de chaleur et leurs effets délétères. Deux options existent pour réduire la température ressentie. La première consiste en la réduction de la température ambiante via l'ajout d'eau sous forme liquide dans le bâtiment (brumisation ou pad-cooling). La deuxième consiste à réduire la température ressentie elle-même via un accroissement des vitesses d'air au niveau des animaux (Le Douarin, 2020b). La présente étude propose de se focaliser sur cette deuxième option. Dans des bâtiments dits dynamiques, la ventilation est générée par des ventilateurs et des extracteurs, gérées par des boitiers de régulation. Il est donc possible de connaitre le débit d'air lorsque le bâtiment est au maximum de sa capacité d'extraction (configuration correspondant à une forte chaleur). En revanche, il n'est pas évident d'extrapoler ce débit à la distribution des vitesses d'air au niveau des animaux, d'autant plus que ces dernières varient en fonction du poids vif et de la densité. La modélisation tri-dimensionnelle des écoulements de type Computational Fluid Dynamics (CFD) permet d'obtenir une cartographie de la distribution des vitesses d'air et de leurs magnitudes dans le bâtiment (Du *et al*, 2019; Osorio Saraz *et al*, 2013; Rojano *et al*, 2015). Une des difficultés liées à ce type de modélisation en élevage avicole est la grande quantité d'animaux à inclure dans la géométrie pouvant nécessiter un nombre considérable de ressources informatiques. Afin d'outrepasser cette difficulté, plusieurs auteurs suggèrent de modéliser la Zone Occupée par les Animaux (ZOA) comme un milieu poreux venant freiner l'écoulement de l'air (Bjerg *et al,* 2011; Cheng *et al* 2018; Du *et al*, 2019). L'acquisition des paramètres physiques du milieu poreux modélisant une ZOA d'un poids vif (PV) et d'une densité animale donnée est donc essentielle et constitue la première partie de cette étude.

Une fois ces paramètres obtenus, il est possible de modéliser les écoulements d'air en bâtiment entier. Deux types de bâtiments représentatifs du parc français caractérisés par leur mode d'extraction (extraction latérale dit Colorado et extraction longitudinale) ont été sélectionnés comme géométries de référence pour les simulations CFD. Suite à l'extraction de la distribution des vitesses d'air pour chaque configuration, des lois de réponse ont pu être générées permettant de connaitre la température effective (ressentie) (Bjerg *et al*, 2018) en fonction de la température et l'humidité ambiantes observées.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Approximation de la ZOA par un milieu poreux

Afin d'outrepasser la difficulté liée au maillage d'un grand nombre d'animaux, la ZOA peut être considérée comme un milieu poreux. Les paramètres physiques de ce dernier sont dépendants de la géométrie des animaux, c'est à dire du volume occupé et doivent donc dépendre du PV et de la densité animale. Cette alternative consiste à ajouter un terme source **S** aux équations de Navier-Stokes :

$$\mathbf{S} = \frac{\Delta p}{\Delta x} = \left(\mu \mathbf{D} + \frac{1}{2}\rho \mathbf{F}\mathbf{U}\right)\mathbf{U}$$

Avec **D** et **F** respectivement les matrices de coefficients de résistance visqueuse (m^{-2}) et inertielle (m^{-1}), **U** le vecteur vitesse d'air ($m.s^{-1}$), μ la viscosité dynamique ($kg.m^{-1}.s^{-1}$) et ρ la densité ($kg.m^{-3}$). Afin de déterminer ces coefficients, un modèle de soufflerie virtuelle a été construit de telle sorte à pouvoir estimer le gradient de pression pour une vitesse donnée, au travers d'un volume représentatif d'un m^2 occupé par des poulets d'un PV et d'une densité prédéfinis (figure 1). Dans le but de générer des coefficients de résistance dépendants du PV et de la densité, plusieurs volumes représentatifs ont été créés à l'aide du procédé suivant. Dans un premier temps, une géométrie de référence représentant un poulet est adaptée pour correspondre à la surface d'un poulet au PV voulu. Ainsi, l'équation suivante reliant PV (kg) et surface de l'animal (m^2) est utilisée (Aerts *et al*, 2004) :

$$A_p = 0.081 PV^{0.667}$$

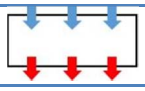
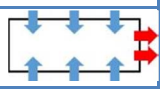
Cette géométrie est alors distribuée de façon aléatoire sur une surface d'un m^2 à la densité voulue. La géométrie ainsi obtenue est virtuellement soumise à plusieurs vitesses d'air afin d'en extraire le gradient de pression et, à l'aide d'une régression quadratique, les coefficients de résistance correspondants. La ZOA n'étant pas isotrope, les composantes suivant l'axe *z* et le plan *xy* ont été différentiées.

1.2. Simulations à l'échelle du bâtiment

Deux configurations types de bâtiments ont été sélectionnées afin d'en extraire la distribution des vitesses d'air au niveau des animaux. Ces configurations se distinguent par leur mode d'extraction. Le premier correspond à un bâtiment de type colorado, à extraction latérale, où l'air entre par

un des long-pans et est extrait de l'autre côté. Le deuxième correspond à une extraction longitudinale, où l'air entre par les deux longs pans et est extrait au pignon.

Tableau 1. *Description des deux configurations types de bâtiments (flèches bleues : entrées d'air, flèches bleues : extraction d'air)*

Paramètres	Colorado	Longitudinal
Longueur (m)	80	100
Largeur (m)	15	18
Pente de toit (%)	30	30
Hauteur long-pans (m)	2.3	2.5
Ventilateurs ($m^3.h^{-1}$)	6x12000	1x25000
Extracteurs ($m^3.h^{-1}$)	5x40000	8x40000
Schéma		

Chaque géométrie a été reproduite virtuellement en trois dimensions et le modèle d'écoulement turbulents k-epsilon a été utilisé (Versteeg *et al*, 2007). Les trappes d'admission d'air étaient ouvertes avec une amplitude (environ 50°) de telle sorte à obtenir une dépression interne proche de 25 Pa.

1.3. Lois de réponse : Température effective

Plusieurs simulations ont été effectuées dans chaque configuration de bâtiment, pour des poids vifs (1.5, 1.7 et 1.9 kg/animal) et des densités animales (18, 20 et 22 anx/m^2) différents, afin d'en extraire des lois de réponse reliant ces données d'entrée à la distribution des vitesses d'air dans la ZOA. Enfin, la distribution de la température effective (TE) peut être estimée d'après l'équation suivante (Bjerg *et al*, 2018) :

$$TE = 0.794T + 0.25T_w + 0.7 + 0.7(43 - T)(u^{0.5} - 0.2^{0.5})$$

Avec T la température ambiante, T_w la température humide et u la magnitude de la vitesse d'air.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Paramètres de la ZOA

Les expressions des paramètres permettant de modéliser la ZOA d'un PV et d'une densité (d) donnés comme un milieu poreux sont les suivantes :

$$\begin{cases} D_{x,y} = 82d^2 - 2988d + 29567 \\ D_z = (0{,}075d - 0{,}274)(1{,}065PV - 0{,}482) \\ F_{x,y} = -14d^2 + 768d - 1686 \\ F_z = (0{,}237d - 2{,}918)(3{,}575PV - 3{,}934) \end{cases}$$

Ces expressions ont été obtenues à l'aide de régressions linéaires à deux variables sur la base de résultats de simulations.

2.2. Vitesses d'air

Les résultats de simulations démontrent de plus grandes vitesses d'air moyennes et de plus grandes variabilités pour les bâtiments à extraction longitudinale que pour ceux à extraction latérale (figure 2a,b). Les bâtiments à extraction longitudinale apportent une vitesse moyenne 32 % supérieure à celle des colorados, indépendamment du PV et de la densité animale. A titre d'exemple, pour un PV de 1.9 kg et une densité de 22 animaux/m^2, la vitesse moyenne est de 0.41 ± 0.25 m/s pour les longitudinaux et 0.31 ± 0.18 m/s pour les colorados. La distribution statistique des vitesses d'air est illustrée en figure 2b.

2.3. Températures effectives

Afin d'obtenir la distribution des températures effectives pour un PV, une densité, une température et une humidité relative ambiantes donnés, un modèle $f(u)$ de type loi log-normale a été ajusté sur la distribution des vitesses d'air (figure 2d)

$$f(u) = \frac{1}{(u-\theta)\sigma\sqrt{2\pi}} e^{\left(-\frac{ln\left(\frac{u-\theta}{m}\right)^2}{2\sigma^2}\right)}$$

Tableau 2. *Formulation des paramètres de la distribution des vitesses d'air f(u)*

Paramètres	Longitudinale	Colorado
σ	$(0.002d + 0.12) \times (0.33PV + 1.65)$	$(0.04d + 1.25) \times (0.023PV + 0.09)$
θ	$(-0.03d + 1.24) \times (0.19PV + 0.6)$	$(-3.08d + 1.19) \times (0.004PV + 0.01)$
m	$(-0.003d + 0.17) \times (-2.07PV + 9.05)$	$(-0.01d + 0.51) \times (-1.06PV + 4.25)$

Il est donc possible d'extrapoler cette distribution des vitesses d'air aux température effectives dans le bâtiment, à condition de connaître la température et l'humidité ambiantes. Des exemples de distributions de températures effectives sont illustrées en figure 3. Les simulations de gauche décrivent le cas d'un été modéré, celles de droite le cas de très fortes chaleurs et celles du milieu l'effet potentiel d'ajout de brume. On constate que les bâtiments à extraction longitudinale permettent de mieux refroidir les animaux que les colorados, du fait de vitesses plus importantes.

Ce modèle d'évaluation de la température effective pourrait être utilisé comme un outil d'objectivation du bien-être animal en cas de fortes chaleurs dans un bâtiment dynamique de poulets standards mais aussi comme un outil d'évaluation de l'efficacité des systèmes de ventilation. Comme démontré, connaître plus précisément la distribution des vitesses d'air au niveau des animaux est essentielle pour mieux appréhender la température ressentie et donc les coups de chaleur. En revanche, une étude tri-dimensionnelle plus approfondie en incluant les équations de

transport et de production de chaleurs (température et humidité) permettrait de cartographier les zones du bâtiment ou la température effective dépasse un certain seuil et donc d'envisager des améliorations structurelles plus ciblées. De plus, il serait nécessaire de réaliser des simulations dans des bâtiments avec des configurations différentes (hauteur, largeur, longueur...) afin d'évaluer les potentielles différences avec les résultats présentés ici. Ce type d'outil pourrait également être développé pour évaluer les températures ressenties par les poussins pendant le démarrage.

La présente étude propose une méthodologie de calcul des températures effectives à l'aide de la distribution des vitesses d'air en bâtiment dynamique. Une pré-étude a été réalisée dans le but de déterminer les paramètres physiques permettant de modéliser la zone occupée par les animaux comme un milieu poreux. Par la suite, cette approche a été mise en œuvre dans le cadre de simulations en bâtiments entiers afin d'en extraire la distribution des vitesses d'air au niveau des animaux pour différents poids vifs et densités animales. Enfin, un outil d'indicateur du bien-être en cas de fortes chaleurs a été présenté.

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aerts, J., & Berckmans, D. (2004). A virtual chicken for climate control design: static and dynamic simulations of heat losses. Transactions of the ASAE, 47(5), 1765

Bjerg, B., Cascone, G., Lee, I.-B., Bartzanas, T., Norton, T., Hong, S.-W. Zhang, G. (2013). Modelling of ammonia emissions from naturally ventilated livestock buildings. Part 3: CFD modelling. Biosystems Engineering, 116(3), 259-275. doi:https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.06.012

Bjerg, B., Zhang, G., Pedersen, P., & Morsing, S. (2018). Effective Temperature for Poultry and Pigs in Hot Climate. In Animal Husbandry and Nutrition (pp. 23-41). InTechOpen London.

Cheng, Q. Y., Li, H., Rong, L., Feng, X. L., Zhang, G. Q., & Li, B. M. (2018). Using CFD to assess the influence of ceiling deflector design on airflow distribution in hen house with tunnel ventilation. Computers and Electronics in Agriculture, 151, 165-174. doi:10.1016/j.compag.2018.05.029

Du, L. H., Yang, C. W., Dominy, R., Yang, L., Hu, C. M., Du, H. R., . . . Jiang, X. S. (2019). Computational Fluid Dynamics aided investigation and optimization of a tunnel-ventilated poultry house in China. Computers and Electronics in Agriculture, 159, 1-15. doi:10.1016/j.compag.2019.02.020

Le Douarin P., (2020a, 15/04). Anticiper le coup de chaleur sur les volailles. Reussir Volailles

Le Douarin P., (2020a, 17/03). Pour éviter le coup de chaleur, il faut privilégier d'abord la vitesse d'air sur les oiseaux. Reussir Volailles

Osorio Saraz, J. A., Arêdes Martins, M., Oliveira Rocha, K. S., Silva Machado, N., & Ciro Velasques, H. J. (2013). Use of computational fluid dynamics to simulate temperature distribution in broiler houses with negative and positive tunnel type ventilation systemS. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 16, 159-166.

Rojano, F., Bournet, P. E., Hassouna, M., Robin, P., Kacira, M., & Choi, C. Y. (2015). Modelling heat and mass transfer of a broiler house using computational fluid dynamics.BiosystemsEngineering,136,25-38

Versteeg, H. K., & Malalasekera, W. (2007). An introduction to computational fluid dynamics: the finite volume method. Pearson education

Figure 1. Description du processus d'obtention des paramètres approximant la ZOA par un milieu poreux. *a) La géométrie de référence est mise à l'échelle d'un poulet à un PV donné. b) Le poulet au PV voulu est distribué aléatoirement sur une surface d'1m^2 à la densité voulue. c) Utilisation du modèle de soufflerie virtuelle pour obtenir le gradient de pression au travers du volume de référence. c) Après simulations avec plusieurs vitesses d'entrées différentes, une régression quadratique permet d'obtenir les paramètres correspondants.*

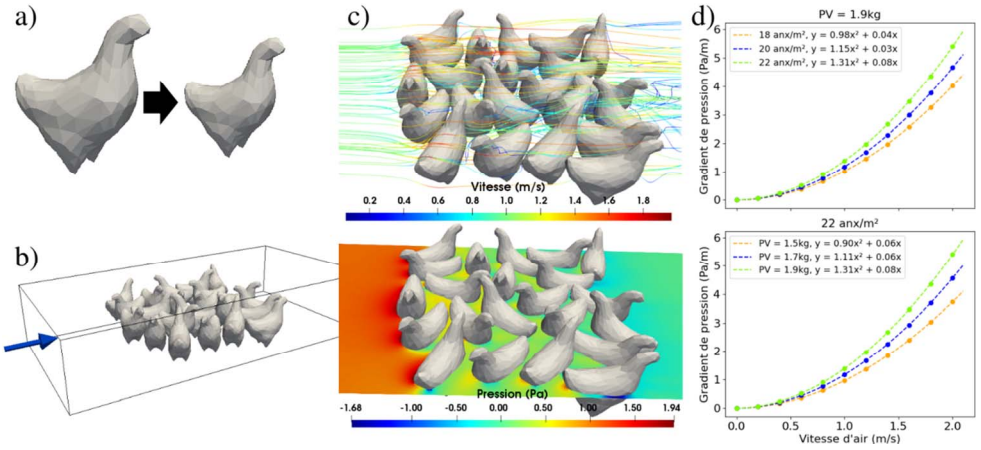


Figure 2. Extraction des vitesses d'air à partir des résultats CFD. *a) Lignes de courant en bâtiment colorado (haut) et à extraction longitudinale (bas). b) Vitesses d'air au niveau des animaux en fonction du type de bâtiment, du PV et de la densité animale. c) Distribution des vitesses d'air au niveau des animaux courant en bâtiment colorado (haut) et à extraction longitudinale (bas). d) Ajustement du modèle log-normale sur la distribution statistique des vitesses d'air*

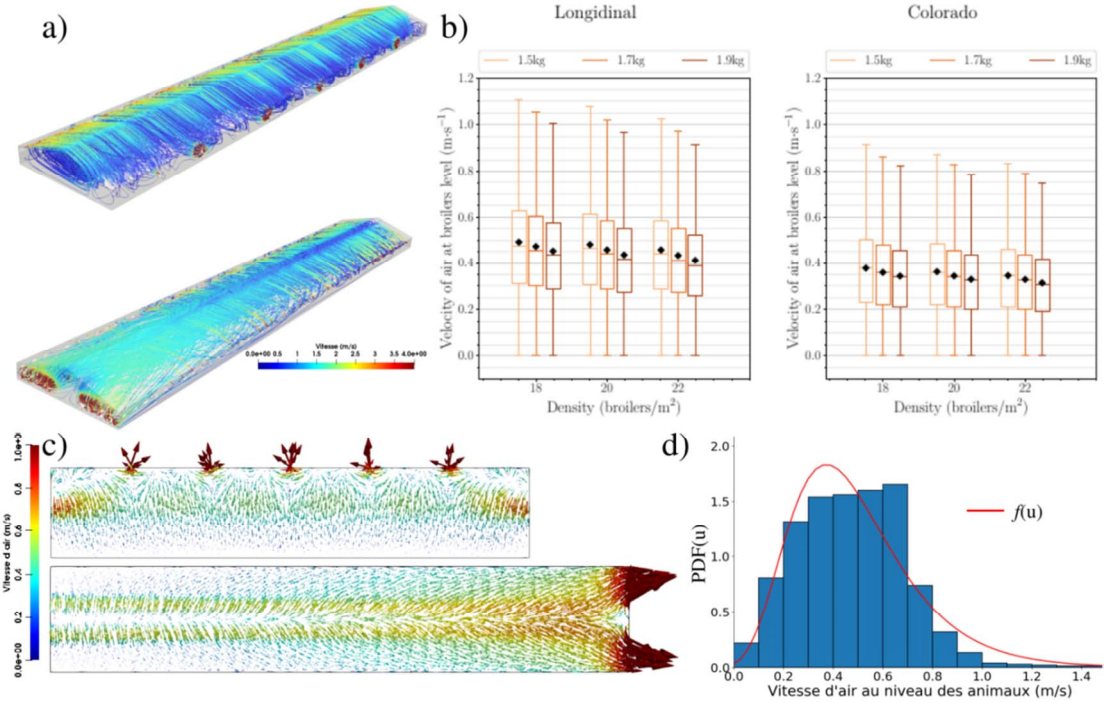
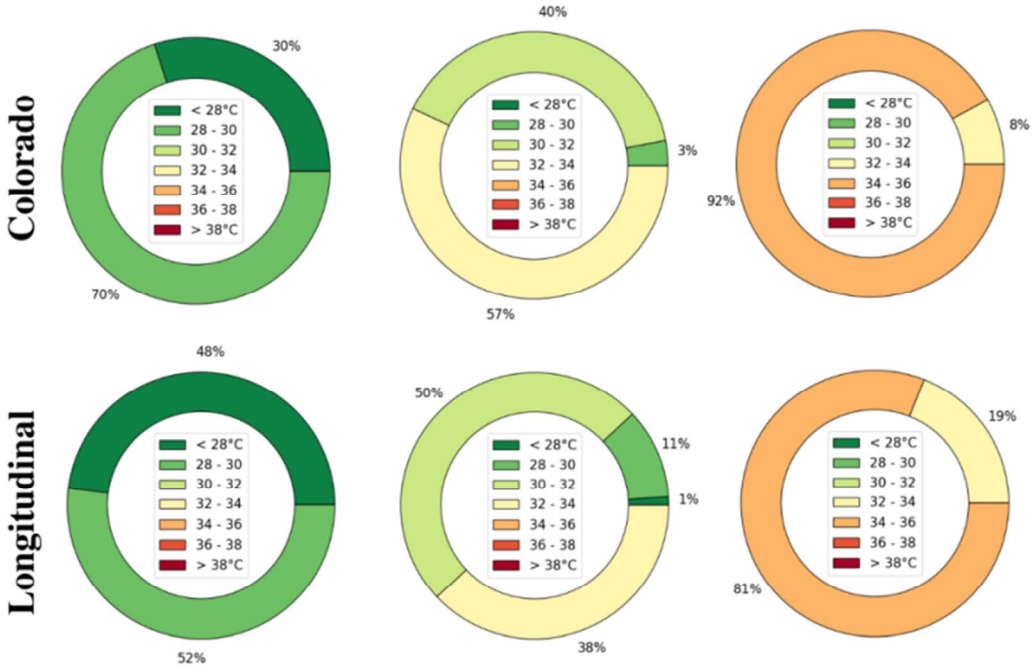


Figure 3. Exemples de distribution des températures effectives. *(gauche) T ambiante = 30°C, HR ambiante = 40%, (centre) T ambiante = 32°C, HR ambiante = 70%, (droite) T ambiante = 36°C, HR ambiante = 40%*


Colorado
Longitudinal
< 28°C
28 - 30
30 - 32
32 - 34
34 - 36
36 - 38
> 38°C
30%
70%
40%
3%
57%
92%
8%
48%
52%
50%
11%
1%
38%
19%
81%

LA PRESENCE D'UN BASSIN D'EAU AMELIORE LE BIEN-ETRE ET LES PERFORMANCES CHEZ LE CANARD DE BARBARIE REPRODUCTEUR

[1]Moysan Jean-Philippe, [1]Szypula Christophe, [1]Belhomme Louis-Jean, [1]Allain Jacques, [1]Robert Jean-François, [1]Tavares Manuel, [1]Le Berre Bernard, [1]Oizel Jean-Michel, [1]Keita Alassane

ANSES Ploufragan Plouzane Niort- 41 Rue de Beaucemaine – 22440 PLOUFRAGAN,
alassane.keita@anses.fr

RÉSUMÉ

Selon la Directive 2010/63 UE relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques, « Il convient de prévoir un bassin d'eau d'au moins 0,50 m^2 par compartiment d'élevage de 2 m^2 et d'une profondeur minimale de 30 cm… » pour que les canards puissent satisfaire leurs besoins comportementaux. Les canards de barbarie reproducteurs de notre laboratoire relèvent de cette directive car ils fournissent des œufs et des animaux utilisés en expérimentation animale. Dans ce cadre, deux expérimentations (exp1 et exp2) ont été conduites pour évaluer l'effet de la mise à disposition d'un bassin sur leur bien-être et leurs performances. Pour chaque expérimentation, un lot témoin sans bassin a été comparé avec un lot disposant d'un bassin. Le bassin, d'une surface de 4 m^2 et d'une profondeur de 30 cm, était équipé d'un système de pompe de filtration de l'eau. Les animaux, mâles et femelles, de chaque lot ont été identifiés individuellement. Un lot était logé dans une animalerie d'environ 15 m² équipée de caillebotis, d'un pondoir, et d'une partie en sol plein recouvert de litière ainsi que d'éléments d'alimentation et d'abreuvement. Les lots ont été suivis pendant 10 mois au cours desquels différents paramètres ont été notés : production d'œufs, état d'emplumement (exp2), prise pondérale.
Le bassin était fortement utilisé par les animaux qui en disposaient. La production d'œufs s'est avérée significativement plus élevée dans le lot bac (+18,5%) que dans le lot témoin. Il a aussi été noté une évolution significativement améliorée de la note d'emplumement dans le lot bac par rapport au lot témoin, à la fois pour les mâles et pour les femelles. Quant à la prise pondérale, l'évolution entre les deux lots n'a pas été significativement différente. Au final, la mise à disposition d'un bassin, dans nos conditions expérimentales, a significativement amélioré la production d'œufs et l'état d'emplumement des animaux.

ABSTRACT

Provision of a water basin improves the well-being and performance of Muscovy duck breeders

According to EU Directive 2010/63 relating to the protection of animals used for scientific purposes, for ducks, "There should be a water basin of at least 0.50 m^2 per 2 m^2 breeding compartment and with a minimum depth of 30 cm… "so that they can meet their behavioral needs. This Directive applies to Muscovy ducks breeders in our laboratory as they provide eggs and animals used in animal experiments. In this context, two experiments (exp1 and exp2) were carried out to assess the effect of the provision of a pool on their well-being and their performance. For each experiment, a control group (A) without a basin was compared with a group with a basin (B). The basin of 4 m2 and a depth of 30 cm, was equipped with a water filtration pump system. The animals, males and females, from each group were individually identified. One group was housed in an approximately 15m² animal facility equipped with slatted floors, a nes, and a solid floor area covered with litter as well as feed and water supplies. The groups were monitored for 10 months during which various parameters were recorded: egg production, feathering state (exp2) and weight gain.
The basin was heavily used by animals who had it. Egg production was found to be significantly higher in the group B (+ 18.5%) than in the group A. A significantly improved change in the feathering score was also noted in the group B compared to the group A, both for the males and for the females. Regarding weight gain, no significant difference was observed between groups. In summary, provision of a basin, under our experimental conditions, significantly improved egg production and the feathering condition of the animals.

INTRODUCTION

L'ANSES Ploufragan Plouzané Niort dispose depuis 1957 d'un élevage de canards de barbarie reproducteurs. Selon la Directive 2010/63 UE relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques, « Il convient de prévoir un bassin d'eau d'au moins 0,50 m^2 par compartiment d'élevage de 2 m^2 et d'une profondeur minimale de 30 cm… » pour que les canards puissent satisfaire leurs besoins comportementaux. Les canards de barbarie reproducteurs de notre laboratoire relèvent de cette directive car ils fournissent des œufs et des animaux utilisés en expérimentation animale. Dans ce cadre, deux expérimentations ont été conduites pour évaluer l'effet de la mise à disposition d'un bassin sur leur bien-être et leurs performances.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Origine des animaux et conditions d'élevage

Les animaux utilisés provenaient de l'élevage de canards de barbarie EOPS de l'ANSES de Ploufragan.

Deux expérimentations (exp1 et exp2) ont été réalisées. Pour chacune d'elles, deux lots d'animaux ont été comparés : pour exp1, 10 mâles et 24 femelles avec bac, 10 mâles et 23 femelles sans bac (lot témoin) ; pour exp2, 17 femelles et 7 mâles dans chaque lot. La répartition des animaux a été faite à 5 sem (exp1) et 10 sem (exp2) selon une randomisation tenant compte du poids vif au moment du transfert dans les locaux d'expérimentation.
Chacun des deux lots était logé dans un espace de 15 m^2 composé de 4 m^2 de bassin, 3 m^2 de caillebottis et 8 m^2 de litière sur sol béton d'une part (lot bac) ou de 7 m^2 de caillebottis et 8 m^2 de litière sur sol béton d'autre part (lot témoin. Les deux lots étaient dans la même salle pour exp1 et dans des animaleries séparées pour exp2. Les animaux ont été identifiés individuellement à l'aide d'une bague.

Chaque lot avait à disposition un abreuvoir de type « plasson », une trémie d'alimentation et un nid à 3 compartiments pour accueillir la ponte. L'eau et l'aliment étaient distribués « *ad libitum* ».
Afin de garantir une qualité d'eau satisfaisante pour le lot bac, le bassin était filtré en permanence par une pompe de débit 6000L/H, équipée de filtres en mousse synthétique complémentés par une lampe UV de 24W.

Les deux lots ont été soumis aux mêmes paramètres de ventilation, chauffage et programme lumineux.

1.2. Suivi des animaux

Les animaux ont été suivis au quotidien par les animaliers de l'élevage expérimental. Pour exp1 et exp2, ils ont été pesés à plusieurs reprises avant et pendant la ponte pour évaluer l'évolution pondérale. Pour exp2, l'état d'emplumement a également été noté, à l'occasion des pesées, selon la grille de notation suivante : 1 (plumage en parfait état), 2 (dégradation mineure et sur une surface < 10%), 3 (dégradation sur une surface entre 10 et 50%), 4 (dégradation sur une surface > 50%), 5 (plumage très fortement dégradé). La ponte, commencée entre 28 et 30 semaines d'âge, a été suivie pour les deux essais sur une période d'environ 8 mois. Chaque groupe était par ailleurs suivi par une caméra pour étudier l'activité et le comportement des animaux. Aucune mue n'a été effectuée au cours des essais.

1.3. Analyse des données

L'évolution de la ponte dans chaque lot a été comparée entre les deux lots pour chaque essai en utilisant un test de tendance. L'évolution du poids moyen des animaux par sexe, par lot et par essai a été analysée en utilisant une analyse de variance avec mesures répétées sur le facteur « date de pesée », en considérant le poids initial comme covariable. Quant à l'emplumement (exp 2), il a été comparé entre les lots par le test non paramétrique de Kruskall-Wallis. Pour tous les tests statistiques effectués, le seuil de signification est de $p < 0,05$.

Les tests statistiques ont été effectués en utilisant les logiciels R V1.1.463 et Systat version 12.0®.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le bassin était fortement utilisé par les animaux qui en disposaient. Cette observation provient de ce qui peut être observé sur les caméras et par les animaliers, les données détaillées sur l'activité et le comportement n'étant pas présentées dans cet article.

Ponte
L'évolution du ratio moyen de ponte (nombre d'œufs pondus par cane et par jour) au cours des 2 études est présentée sur la figure 1. Ce ratio, pour les animaux ayant eu accès au bac était de 0.38 Œuf/cane/jour (respectivement 0,41 et 0,36 pour exp 1 et exp 2) contre 0.31 Œuf/cane/jour pour les lots témoins

(respectivement 0,31 et 0,30 pour exp 1 et exp 2), cette différence étant statistiquement significative ($p<0,05$).

Emplumement

L'évolution de la note d'emplumement, par sexe et par lot est présentée sur la figure 2.

A 15 semaines d'âge, la note moyenne des mâles était de 2.9 dans les deux groupes (2,9 vs 3,0 respectivement pour les lots bac et témoin). A 56 semaines d'âge, cette note était de 1,1 dans le lot bac versus 5,0 (note la plus mauvaise) dans le lot témoin ($p < 0,05$) .

Pour les femelles, la note était de 1,2 à 15 semaines d'âge dans le lot témoin et 1,0 dans le lot bac. A 56 semaines d'âge, cette note était de 1,2 dans le lot bac versus 4,3 dans le lot témoin ($p < 0,05$). On note donc une différence statistiquement significative entre les évolutions des notes d'emplumement entre les lots bac et témoin à la fois chez les mâles et les femelles ($p<0,05$).

Poids vif

L'évolution du poids vif moyen par lot est présentée, par lot et sexe, sur la figure 3 pour exp 1 et sur la figure 4 pour exp2. Pour exp1 et exp2, il n'y a pas de différence significative ($p>0,05$) entre les évolutions pondérales des deux lots, quel que soit le sexe.

CONCLUSION

Au cours des expérimentations menées au sein de la structure de l'ANSES, l'impact de la mise à disposition d'un bassin a été positif. Cela s'est traduit par une production d'œufs significativement plus importante, de même qu'un meilleur état d'emplumement. Plusieurs publications ont déjà signalé le lien entre la mise à disposition d'un bassin et la propreté du plumage (Reiter et al., 1997, Jones et al., 2009, Farghly et Mahmoud, 2018). Mais à notre connaissance, c'est la première publication provenant d'une étude contrôlée chez des reproducteurs en canards de barbarie et montrant, en plus de l'état corporel, une amélioration significative de la production d'œufs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DIRECTIVE 2010/63/UE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques
- Reiter, K., Zernig, F., Bessei, W., 1997. Effect of water bath and free range on behaviour and feathering in Pekin, Muscovy, and Mulard duck. In: The 11th European Symposium on Waterfowl, Nantes, France, pp. 224–229.
- Jones, T.A., Waitt, C.D., Dawkins, M.S., 2009. Water off a duck's back: Showers and troughs match ponds for improving duck welfare. Appl. Anim. Behav. Sci. 116, 52–57.
- Farghly, M.F.A., Mahmoud U.T., 2018. Access to outdoor swimming pond during summer season improved Muscovy ducks performance and health status. Livestock Science, 211, 98–103.

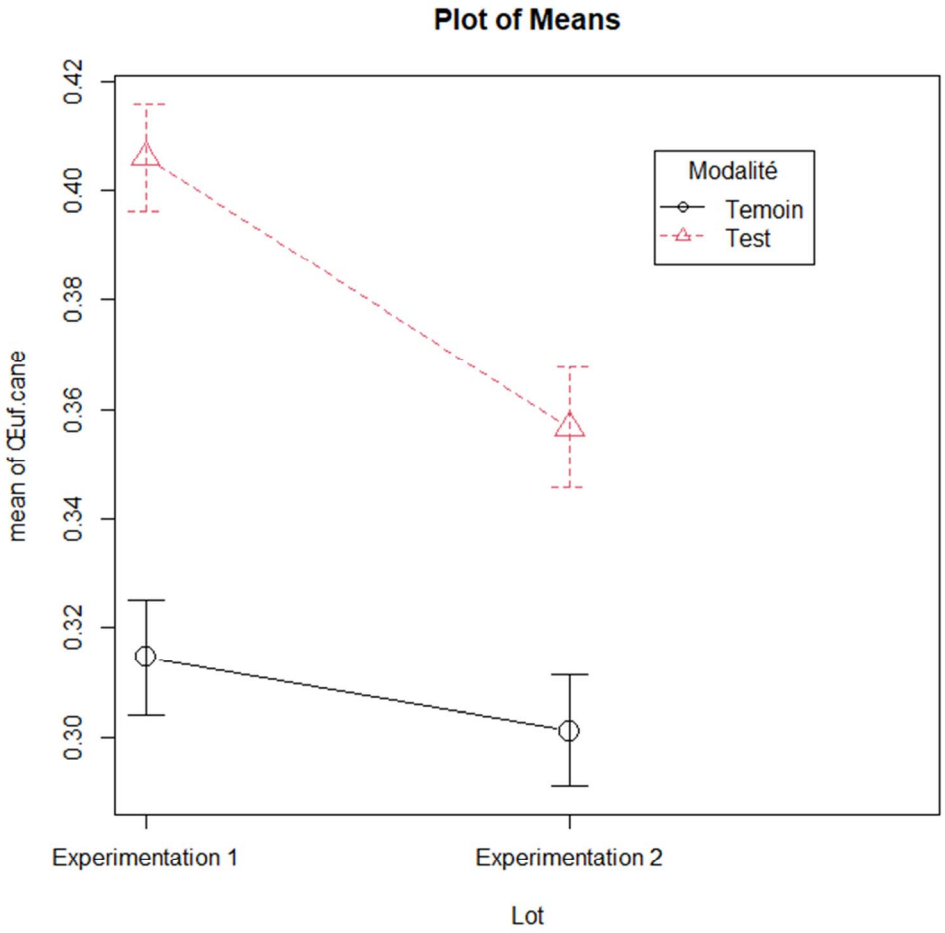
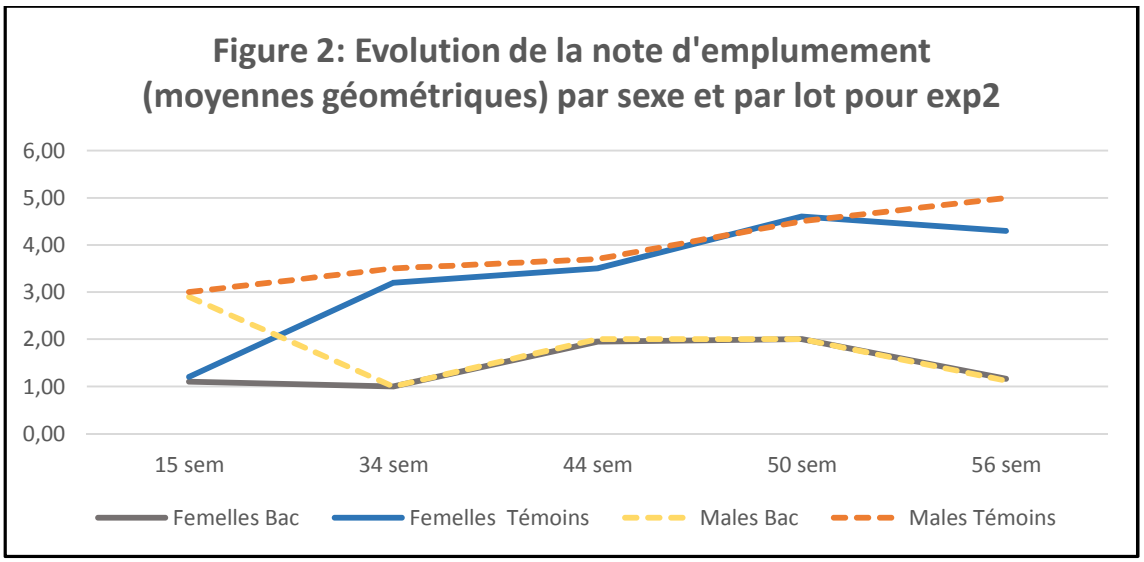
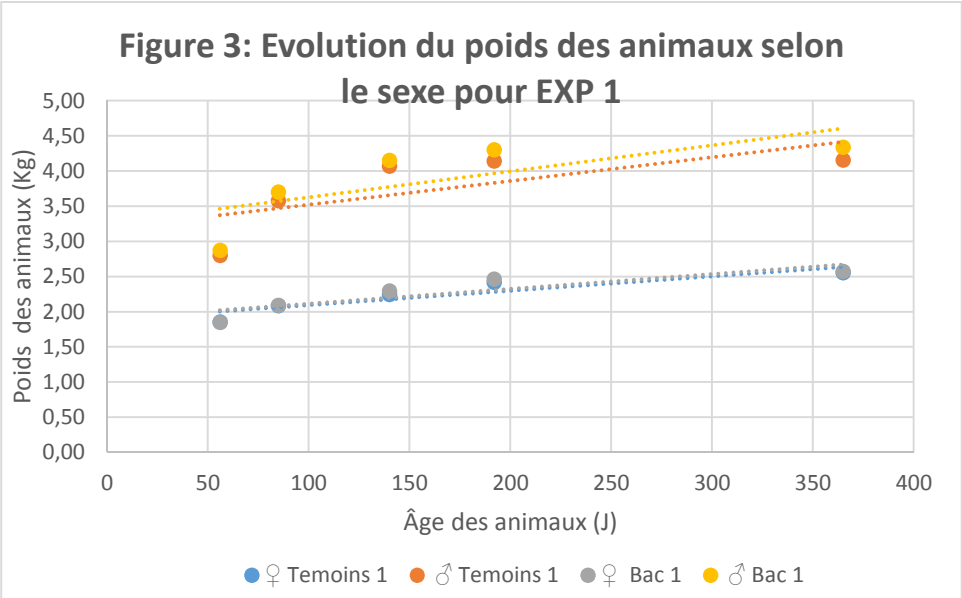
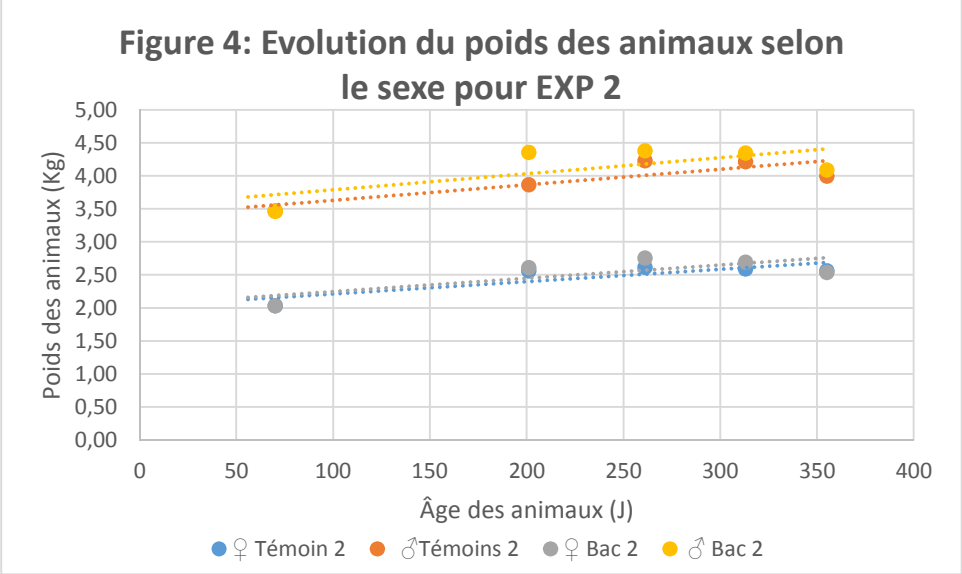


Figure 1 : Ratio moyen de ponte (nombre d'œufs pondus par cane et par jour) par lot et par expérimentation



Note d'emplument allant de 1 (plumage en parfait état) à 5 (plumage très fortement dégradé).


Figure 3: Evolution du poids des animaux selon le sexe pour EXP 1
Poids des animaux (Kg)
5,00
4,50
4,00
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
0
50
100
150
200
250
300
350
400
Âge des animaux (J)
♀ Temoins 1
♂ Temoins 1
♀ Bac 1
♂ Bac 1


Figure 4: Evolution du poids des animaux selon le sexe pour EXP 2
Poids des animaux (Kg)
5,00
4,50
4,00
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
0
50
100
150
200
250
300
350
400
Âge des animaux (J)
♀ Témoin 2
♂Témoins 2
♀ Bac 2
♂ Bac 2

SESSION

ECONOMIE - SOCIOLOGIE

SESSION

ECONOMIE – SOCIOLOGIE

Synthèse

CHINE : FACTEUR DE DESTABILISATION DES MARCHES MONDIAUX DE LA VIANDE DE VOLAILLES ?

Hercule Jonathan et Le Lay Aymeric

Institut technique des filières avicole, cunicole et piscicole (ITAVI)

Maison de l'Agriculture de Rennes, Rond-point Maurice-le-Lannou

35042 Rennes, France

lelay@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ : « Chine : facteur de déstabilisation des marchés mondiaux de la viande de volailles ? »
Depuis 2000, la demande en viande de volailles de la Chine évolue au rythme de maladies virales (aviaires, porcines, humaines, en Chine ou ailleurs), de l'élévation du niveau de vie, des changements d'habitudes de consommation, et des priorités des autorités chinoises. Entre 2013 et 2017, la consommation de volailles était en croissance, mais d'un dynamisme moindre que les autres productions animales, car symboliquement et techniquement marquée par plusieurs crises d'influenza aviaire (IA). De 2018 à 2020, la lutte contre la fièvre porcine africaine (FPA) provoque une division par deux du cheptel porcin chinois. En conséquence, la forte disponibilité en alimentation animale et le report des consommateurs vers la viande de volailles avaient favorisé le développement de l'aviculture chinoise et les importations de viandes de volailles. Malgré les perturbations liées à la Covid-19, l'année 2020 a marqué un pic dans la consommation (14,6 Mt, + 6 % / 2019) et les importations (1 Mt, + 70 % / 2019) chinoises de poulet de chair. À partir de 2021, les importations se tarissent avec la reconstitution de l'élevage porcin et un développement dynamique de l'aviculture.

ABSTRACT: «China: destabilizing factor of world poultry meat markets? »
Since 2000, poultry meat demand in China evolved alongside viral disease outbreaks (avian, swine, human, in China or elsewhere), income growth, consumption habits and priorities of the Chinese authorities. Between 2013 and 2017, poultry meat consumption increased, but with less dynamism than other animal products, because symbolically and technically marked by several avian influenza (IA) crisis. From 2018 to 2020, the Chinese pig herd has been divided in two due to numerous African swine fever (ASF) outbreaks. As a result, the high availability of animal feed and the shift of consumers to poultry meat have promoted the development of Chinese poultry farming and poultry meat imports. Despite the disruptions related to Covid-19, year 2020 marked a peak in Chinese broiler consumption (14.6 Mt, + 6 %) and imports (1 Mt, + 70 %). From 2021 onwards, poultry imports are fading with the rebuilding of pig herds and a dynamic development of poultry farming.

INTRODUCTION

La domestication du *Gallus gallus* a eu lieu en Asie du Sud-Est il y a environ 8 000 ans. L'aviculture est donc très ancienne sur le territoire chinois, mais était restée une activité d'appoint mineure pour les villages ruraux. En République Populaire de Chine (RPC ou Chine), il existe d'abord quelques fermes d'Etat de taille commerciale à proximité des villes. Mais ce n'est qu'à partir du début des années 80 qu'une partie de la production va s'industrialiser à la faveur des réformes successives vers une économie de marché. (Magdelaine, 2017)

Des entreprises privées, constituées d'une nouvelle génération de managers formés à la zootechnie et aux sciences vétérinaires, vont développer une aviculture industrielle mobilisant des souches hybrides (importées des Etats-Unis principalement), des vaccins et des nouvelles technologies et connaissances en alimentation animale et zootechnie.

Si la production de volailles de chair se fait parallèlement à l'augmentation de la population chinoise (+ 430 millions de personnes depuis 1980), les importations restent essentielles pour répondre à la demande croissante du marché intérieur. Cette dépendance aux importations est, comme pour les autres productions agricoles, perçue par les dirigeants chinois comme une menace par le pouvoir qui poursuit l'objectif millénaire des dirigeants chinois : l'autosuffisance alimentaire. En ce sens, plusieurs décisions politiques (aides publiques à l'industrie, politiques de soutien des prix et taxes à l'importation) ont soutenu le développement des capacités de production.

Depuis 30 ans, l'augmentation des revenus a modifié les habitudes de consommation des Chinois et favorisé la demande en protéines animales. La consommation de viande de poulet a fortement progressé (environ 14kg / hab en 2020, x6 depuis les années 90), bien que marquée depuis plusieurs années par des crises sanitaires successives en Chine et ailleurs dans le monde.

Face aux évolutions récentes de la production, du commerce et de la consommation de volailles, il est légitime de se demander dans quelle mesure la Chine est devenue un facteur de déstabilisation des marchés mondiaux des produits avicoles.

Ce texte expose plusieurs éléments structurants pour le contexte avicole chinois. D'une part, en décrivant l'organisation de la production de volailles de chair dans le pays. D'autre part, en identifiant comment les récentes crises sanitaires ont affecté le secteur de la volaille en Chine. Enfin, les perspectives du marché chinois et les positions des deux principaux exportateurs de viande de volailles vers la Chine (Brésil et Etats-Unis) sont décrites.

MATERIEL ET METHODE

Les données disponibles pour étudier les productions agricoles et agroalimentaires en Chine sont partielles et souvent indirectes.

Il existe plusieurs sources statistiques nationales[1]. Les données sur les prix intérieurs sont relativement précises, tandis que les données de production et de consommation doivent être recoupées avec d'autres sources afin de reconstituer des ordres de grandeurs, les tendances et les profils des consommateurs.

Ce travail se repose donc également sur les publications de l'USDA (*United States Department of Agriculture*), de Chatham House, de la FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), de l'OIE (Organisation mondiale de la santé animale), de TDM (Trade Data Monitor), de Eurostat ainsi que d'articles de presse spécialisées, de rapports publiés par des industries avicoles et des analyses du bureau d'études ABCIS auquel contribue l'ITAVI.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Zoom sur le secteur avicole chinois

A. Segmentation du marché de la volaille de chair

La volaille est la deuxième viande consommée en Chine à hauteur de 21 Mt en 2018 (environ 20 % de la consommation mondiale) contre 56 Mt pour le porc (environ 50 % de la consommation mondiale).

Entre 2012 et 2018 (période stable), le taux d'autosuffisance en volailles de chair est estimé entre 96 % et 98 %, soit une balance commerciale déficitaire avec en moyenne 535 kt de produits importés chaque année (1 milliards $ en valeur), pour 225 kt exportés (500 millions $ en valeur)[2].

La Chine importe majoritairement des pattes, ailes et abats destinés à l'alimentation humaine. En effet, les préférences de consommation des Chinois sont opposées à celles des occidentaux, centrés sur la consommation de filets. (Figure 1)

[1] Notamment les sites du Ministère de l'agriculture et des affaires rurales de la RPC (http://xmy.agri.cn/) et du Bureau national des statistiques (http://www.stats.gov.cn et https://data.stats.gov.cn) ;

[2] La Chine exporte des préparations et produits élaborés, en particulier vers ses voisins asiatiques à haut revenu (Japon, Hong-Kong, Corée du Sud). Mais il est difficile d'estimer la part et les morceaux de viande de volailles dans ces préparations.

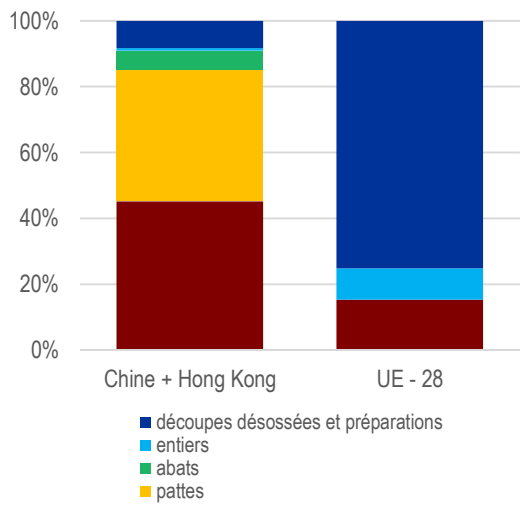


Figure 1: Importations de viande et abats de poulet par l'UE-28 et la Chine + Hong-Kong en 2019 – source : ABCIS d'après Trade Data Monitor, Eurostat

Cela se traduit dans le prix des produits de découpe : en Chine, le prix des filets au kilo est environ 30 % inférieur à celui des cuisses, et 70 % inférieur à celui des ailes. Pour les exportateurs, la Chine, en étant complémentaire des autres destinations, permet de valoriser l'ensemble des morceaux de la carcasse.

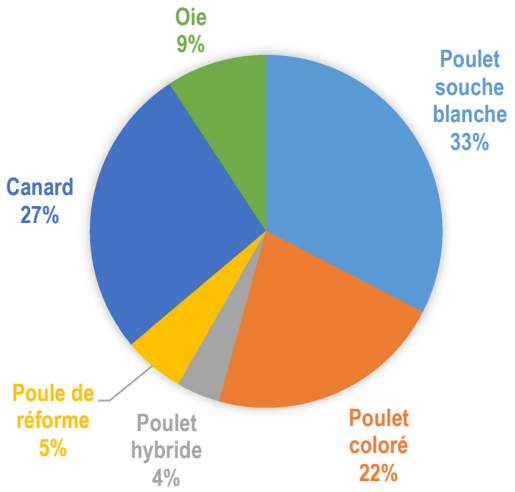


Figure 2: Répartition de la production de volaille par souche et espèce en Chine en 2018 – Source : ITAVI d'après USDA, Magdelaine (2016)

En Chine, la production de volailles de chair se distingue en quatre principales filières (Figure 2) :

- Poulets de souches colorées (issus de productions traditionnelles mais qui s'industrialisent, achetés vifs ou entiers), 22% ;
- Poulets blanc (production industrialisée dédiée à la découpe, achetés au détail), 33% ;
- Poulets issus de souches hybrides (compromis entre qualité gustatives et performances techniques), 4% ;
- Palmipèdes (surtout le canard pékin), 27%

Les poulets de souches colorées (jaune en particulier), sont le produit d'élevages traditionnels. Ces souches locales (plus de 150 types différents) sont vendues en vif sur les marchés, en supermarchés et consommées entières, notamment par les catégories aisées et dans un cadre festif ;

Le poulet blanc, particulièrement adapté pour la découpe est vendu principalement dans les enseignes de distribution, type grandes et moyennes surfaces (GMS) et en restauration hors domicile (RHD). La zone de production privilégiée se situe au Nord-Est de la Chine dans la province du Shandong et dans les régions limitrophes.

Les souches de poulets hybrides, se développent depuis quelques années, car elles présentent des performances techniques améliorées et des qualités gustatives plus proches du poulet jaune. Ces souches (notamment la souche 817 *Crossbreed chicken*, 817C) font l'objet d'une recherche scientifique intensive. (Chen et al. 2015) Leur développement pourrait rapidement modifier la structuration du marché.

Les productions de palmipèdes constituent également une part importante de la consommation de volaille en Chine, avec le canard pékin, plus souvent commercialisé entier dans le Nord de la Chine et préparé sous forme de langues, pattes et cous dans le Sud.

B. Organisation de la production de volaille de chair en Chine

En 2018, les autorités chinoises recensaient 19 millions d'exploitations avicoles (Figure 3) :

L'immense majorité (98 %) est constituée de petites exploitations produisant moins de 2 000 volailles / an, correspondant à une agriculture vivrière. Celle-ci est estimé à environ 10% de la production de volaille de chair du pays.

Les fermes de plus de 50 000 volailles produites par an représentaient en 2018 environ 50% de la production nationale (contre 30% en 2010). Cette croissance correspond à des élevages de 100 000 à 500 000 têtes, mais également à de très grands élevages de plus d'un million de têtes par an. A titre de comparaison, une exploitation avicole française produisant du poulet standard dans 2 bâtiments de 1 200 m^2 produit environ 350 000 poulets / an.

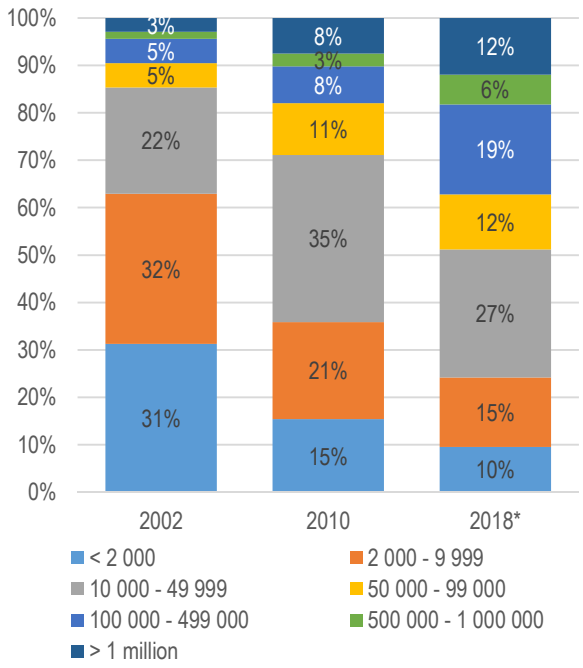


Figure 3: Répartition de la production de volaille en Chine par taille de ferme – source : ABCIS d'après China Agricultural Yearbook

Le secteur de l'abattage-transformation de volailles reste faiblement concentré avec les dix premières entreprises représentant 32 % de la production de volaille (en 2018). Cependant, la concentration sectorielle pour les entreprises produisant du poulet blanc est plus élevée avec les sept premières entreprises correspondant à près de la moitié du chiffre d'affaires.

Les filières organisées se structurent autour de contrats de production réalisés entre les entreprises et les éleveurs : les entreprises fournissent les intrants (poussins, aliments, produits vétérinaires) à un prix donné, et les éleveurs engraissent les animaux pour les vendre au prix fixé dans le contrat.

Les entreprises produisant du poulet jaune revendent généralement les poulets en vif sur les marchés traditionnels à travers des centres de collecte d'animaux. Par exemple, le producteur Wen's n'abat que 10% des poulets qu'il produit.

Des filières totalement intégrées de la reproduction à l'abattage existent aussi, notamment dans le cadre de la production de poulet blanc. Cette intégration permet de garantir la qualité sanitaire des produits pour des chaînes de restauration commerciale (McDonald's, KFC).

Du point de vue des performances techniques, bien qu'il soit difficile de réaliser des estimations précises, il semble qu'il y ait encore un retard de la production chinoise sur la production de poulets blancs. La génétique[3] est l'un des principaux facteurs limitants. En effet, la Chine importe plus de 90 % des parentaux et grand-parentaux en poulet blanc (souches Arbor Acres, Ross, Cobb) ce qui représente une fragilité structurelle (voir plus loin).

2. Le marché avicole chinois face aux crises sanitaires

Depuis 25 ans, la consommation et la production de volailles de chair en Chine sont marquées par des épidémies successives. Influenza aviaire, fièvre porcine africaine, Covid-19, ont affecté le cheptel, les consommateurs et les priorités des autorités chinoises.

A. Influenza aviaire

L'influenza aviaire (IA), est une maladie virale animale qui peut infecter plusieurs espèces d'oiseaux d'élevage, d'ornement et sauvages. Certaines souches entraînent un taux de mortalité élevé (influenza aviaire hautement pathogène IAHP) et/ou ont pu être isolées chez des mammifères dont l'Homme. Si les IA sévissent surtout en élevage, elles ont également causé plusieurs centaines de morts selon l'OIE.

Les virus associés à cette maladie sont présents partout dans le monde, et font donc l'objet de mesures sanitaires spécifiques. Des pays et zones touchées par des IAHP peuvent se voir refuser (parfois abusivement) des marchés d'exportation sur les produits avicoles, ce qui entraine des pertes économiques significatives.

La première épidémie de grippe aviaire ayant fortement affecté l'aviculture chinoise a eu lieu en 1997, lorsqu'un virus H5N1 IAHP a été repéré suite à la mort de 6 personnes à Hong Kong entre mai et décembre. Entre le 29 et le 31 décembre, 1,5 millions de poulets ont été abattus pour endiguer l'épidémie. (Chan 2002). Cette crise provoquera un premier fléchissement de la croissance de la production avicole chinoise (+3% par an, contre +10% auparavant) du fait d'une baisse des investissements et d'une défiance d'une partie des consommateurs chinois.

Le virus H5N1 IAHP a ré-émergé en Chine en 2003 avant de se répandre rapidement dans toute l'Asie du Sud-Est[4] entre 2004 et 2005, puis en Europe et jusqu'en Afrique du Sud. Les volailles d'élevage étant abattues lorsqu'un foyer est identifié, les capacités de

[3] C'est-à-dire la sélection de générations successives de souches de volailles permettant de fournir des poussins en grand nombre et avec des performances techniques précises et homogènes.

[4] Certains observateurs considèrent désormais H5N1 comme endémique à la sous-région Asie du Sud-Est.

productions des pays considérés (dont la Chine) ont été très impactées.

Suite à cet épisode, d'autres virus IAHP sont régulièrement identifié en Chine. En 2013, c'était le cas de H7N9, qui est activement surveillé. La Chine n'est toujours pas indemne des IAHP : rien qu'au premier semestre 2020 ce sont 6 foyers qui ont été identifiés par le Ministère chinois de l'agriculture et déclarés à l'OIE.

Les autorités vétérinaires sont bien conscientes de cette situation. La Chine est dotée d'un programme de vaccination nationale des élevages pour les virus H5 et H7[5]. Cette stratégie pose des risques, notamment de circulation à bas bruit du virus, mais le rapport coût bénéfice a été jugé favorable dans un contexte avicole chinois marqué par une succession d'épidémies d'influenza aviaire entre 2013 et 2017.

Mais l'influenza aviaire peut également avoir des conséquences pour la Chine, lorsqu'elle émerge hors de Chine.

En février 2004, un virus H5N2 IAHP a été repéré aux États-Unis. La Chine a alors appliqué, une interdiction d'importation de produits avicoles en provenance des États-Unis. Les États-Unis étaient le premier fournisseur de la Chine, et les possibilités de report relativement limitées à l'époque. Ainsi, les importations chinoises de viande de volailles sont passée de 763 kt en 2003 à 220 kt en 2004.

Suite à cela, la Chine a cherché à diversifier son approvisionnement en viande de volailles de zones indemnes de l'IA, en augmentant ses importations d'Amérique du Sud, en particulier du Brésil. Elle n'avait cependant pas assez anticipé sa dépendance à la génétique, quasi-monopole des États-Unis, ce qui lui posera des problèmes en 2015.

Cette année-là, un foyer de grippe aviaire est identifié aux États-Unis, tel que la Chine en interdit l'importation des produits avicoles, dont les reproducteurs. Cela a entrainé une rupture d'approvisionnement brutale de poussins *Gallus* reproducteurs, essentiels aux élevages industriels (Figure 4). Or, ceux-ci étaient devenus partie intégrante de l'alimentation d'une partie des Chinois.

Une fenêtre d'opportunité pour l'export de la génétique française s'est ouverte, jusqu'à ce que l'hexagone subisse également une interdiction d'exportations vers la Chine pour cause d'un virus IAHP en fin d'année 2015.

En Chine, la solution de court terme a été de pratiquer des mues sur les poules reproductrices, c'est-à-dire relancer le cycle de ponte par un jeûne. Cela permet de maintenir la production, mais les poussins produits ont alors des performances techniques et sanitaires dégradées. Dans les élevages chinois, les baisses des performances techniques liées à ces défaillances ont été visibles jusqu'en 2018.

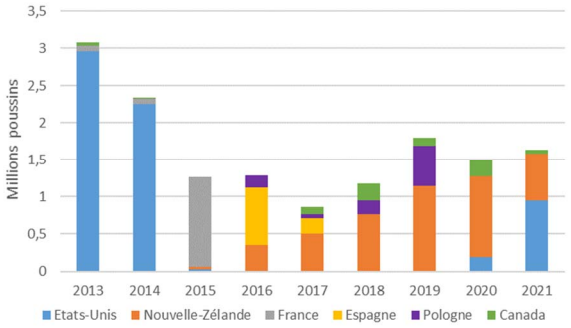


Figure 4:Exportations de poussins gallus reproducteurs vers la Chine. Source : ITAVI d'après TDM

Dès 2016, l'approvisionnement chinois en génétique aviaire s'est diversifié autour de plusieurs pays (Espagne, Nouvelle-Zélande, Pologne) indemnes de l'influenza aviaire. Les autorités chinoises soutiennent également le développement d'une production domestique en génétique aviaire.

Ce n'est que fin 2019, que le gouvernement chinois annonce successivement une réouverture du marché pour la France[6] et les États-Unis, tant pour la viande que pour la génétique. En 2021, les Etats-Unis sont redevenus le premier exportateur de génétique de poulet vers la Chine, aux dépens surtout de la Nouvelle-Zélande.

En parallèle, des scandales sanitaires ont aussi ébranlé la confiance pour les produits chinois. (Le Figaro, 2014) Ainsi, sur cette période, la production de viande de volaille en Chine n'a pas suivi la même progression que celle de la demande totale en viandes, en forte hausse.

La consommation de viande de volailles en Chine est aussi influencée par la situation des autres filières

[5] Contrairement à l'Union européenne qui mise pour l'instant tout sur la biosécurité, notamment pour des questions commerciales (standard d'exportations, notamment pour la génétique) ;

[6] En 2020, la France subit un nouvel épisode de grippe aviaire à l'automne. Le pays sera déclaré indemne en septembre 2021. Mais un premier foyer en novembre 2021 lui fait perdre ce statut. A noter que le virus de ces vagues (H5N8) a d'abord été détecté en Irlande dans les années 80, même s'il est également présent en Chine.

animales, en particulier la filière porcine. Et cette dernière a été fortement impactée par une autre maladie : la fièvre porcine africaine (FPA).

B. Les porcs, le virus et la volaille

La FPA est une maladie virale contagieuse et mortelle des suidés, mais ne constitue pas une menace pour la santé humaine, ni pour celles des volailles. Originaire d'Afrique, elle a commencé à s'étendre sur d'autres continents dans les années 60.

La première occurrence de la FPA en Asie a été repérée en Chine en août 2018. L'épidémie s'est rapidement étendue et des abattages préventifs ont conduit à une division par deux de la production totale de viande porc chinoise. Une fois la décapitalisation terminée, mi 2019, la hausse vertigineuse des prix du porc a incité les exportateurs de toute viande à accroître leurs envois vers la Chine.

En parallèle, la volonté politique de limiter le recours aux importations a bénéficié à la volaille, qui en raison de courts cycles de production (30 à 80 jours), a attiré des investissements privés et des aides publiques. La production a fortement augmenté en 2019 (+ 13 % en un an, pour un volume de 23 Mt).

Le prix des intrants a également évolué en conséquence de la FPA. Sur l'ensemble de l'année 2019, le prix des poussin (+ 56 %) et du poulet vif (+ 14 %) se sont inscrits en nette hausse par rapport à l'année précédente. Tandis que la baisse brutale de la production porcine a laissé des disponibilités importantes en alimentation animale, tel que le prix du soja était historiquement bas.

Face à cette crise, le gouvernement soutient la reconstruction du cheptel porcin. Pour gérer la FPA, devenue endémique, le sanitaire est une priorité de ce nouveau développement. Les autorités ont fait le choix de soutenir des élevages industriels de grande capacité, en mesure d'appliquer des procédures de biosécurité strictes.

Une partie des éleveurs de porcs privés de leurs cheptel (abattu ou parfois mort des conséquences de la maladie) ont converti, au moins temporairement, leurs bâtiments à l'élevage de poulets ou de canards. Néanmoins, le risque de l'influenza aviaire reste présent et il est possible que les autorités privilégient des élevages de grandes capacités.

Les conséquences de la FPA auraient pu marquer une croissance historique pour l'aviculture chinoise en 2020, c'était sans compter sur les conséquences d'une pandémie, affectant cette fois la santé humaine.

C. Les coronavirus et la Chine

La COVID-19 est la maladie causée par un coronavirus, le SARS-CoV-2. Elle ne touche ni les porcs, ni les volailles, mais les humains (dont certains sont à risque de décéder d'une forme grave). L'épidémie s'est répandue depuis la Chine à partir de décembre 2019 (principalement dans la province du Hubei) et s'est rapidement transformée en une pandémie aux multiples conséquences, notamment pour la production de volailles de chair.

Début 2020, les restrictions sanitaires appliquées par la Chine pour faire face à l'épidémie de Covid-19 ont rapidement affecté la chaîne de production à tous les niveaux : transports d'alimentation animale et d'animaux finis perturbés, abattoirs en baisse d'activité, ralentissement voire arrêt des opérations de déchargement aux ports…

Les élevages de volailles de la province du Hubei (500 millions de volailles abattues/an) ont dû faire face dans le meilleur des cas à une chute vertigineuse de leurs marges et plus souvent à la destruction immédiate des animaux, en l'absence de stocks d'aliments ou de possibilité d'enlèvement des lots. Selon l'USDA, la production de viande de poulet aurait baisse de 21 % au premier trimestre 2020.

En 2020, plusieurs marchés export vers la Chine ont été fermés ou ralentis en raison de perturbations sur la chaîne logistique (absence de personnel pour décharger les conteneurs, rotations de camion plus lentes…). Néanmoins une hausse des importations chinoises de viande de volaille est constatée au premier trimestre 2020 (+ 26 %).

En Chine, avec le relâchement des restrictions sanitaires à partir de la mars 2020, le prix du poussin est reparti à la hausse et les industriels ont bénéficié de soutiens financiers de l'État pour relancer la production. Ce contexte de prix met en avant des perspectives à moyen terme toujours favorables pour la production avicole, en substitution de la viande de porc, sous réserve d'une certaine stabilité du système sanitaire dans les prochaines années (influenza aviaire et coronavirus).

La priorité donnée au sanitaire depuis la crise de la Covid-19 pourrait également avoir un impact de long terme sur la consommation de viande de volailles. Le 3 juillet 2020 a été annoncée la suppression (progressive) de l'abattage et la vente d'animaux vivants sur les marchés alimentaires en Chine. (*La France Agricole,* 2020). C'est une mesure importante, déjà exprimée par le passé, mais qui avait fait face à une forte résistance. Car si le poids des marchés traditionnels dans les achats d'aliments frais est en recul depuis une vingtaine d'années, ils représentaient

encore près de la moitié des achats d'aliments frais en 2018. (McKinsey, 2019) Ces achats vifs correspondent à un marché alimentaire encore fondé sur l'économie informelle et réduisent la nécessité de respect de la chaîne du froid.

Au-delà du SARS-CoV2, il ne faut pas négliger les risques liés aux autres coronavirus présents en Chine. Déjà entre 2002 et 2004, un coronavirus originaire de Chine (identifié comme SARS-Cov, ou SARS en France) avait échappé aux dispositifs de surveillance épidémiologique et entrainé plusieurs centaines de morts dans une trentaine de pays. Les marchés d'animaux sauvages et l'empiètement des villes sur des zones peuplées d'espèces porteuses de coronavirus (chauves-souris en particulier) sont notamment des facteurs de risques d'émergences d'épidémies.

3. Marché chinois et volailles mondiales

Entre l'évolution de la consommation domestique et la volonté politique de soutenir la production, l'année 2022 devrait marquer un nouveau développement de la production de volailles en Chine.

*Bilan de production et consommation de la viande de poulet en Chine – (*USDA, 2022*)*

(millions de tonnes)	2018	2019	2020	2021	2022*
Production	11,7	13,8	14,6	14,0	14,3
Import	0,35	0,58	1,00	0,9	0,8
Export	0,45	0,43	0,39	0,43	0,46
Consommation	11,6	14,0	15,2	14,5	14,6

** Prévisions USDA*

A. Volailles et Chine depuis la FPA

La crise de la FPA a débuté en 2018. Une des conséquences a été la hausse significative des importations chinoises en viandes de volailles. La demande a été particulièrement dynamique sur les découpes avec os, pattes et abats.

Ces achats ont majoritairement profité aux fournisseurs historiques (Brésil), aux entreprises asiatiques partenaires de groupes chinois (WH Group, thaïlandais CP Group) et au retour des Etats-Unis.

Entre 2018 et 2020, le premier fournisseur de la Chine était le Brésil (env. 50 %), suivi des États-Unis (env. 25 %) et de l'Union européenne (env. 10 %). La croissance de la demande s'est surtout faite sur les découpes congelées avec os (ailes), en provenance du Brésil et de Thaïlande.

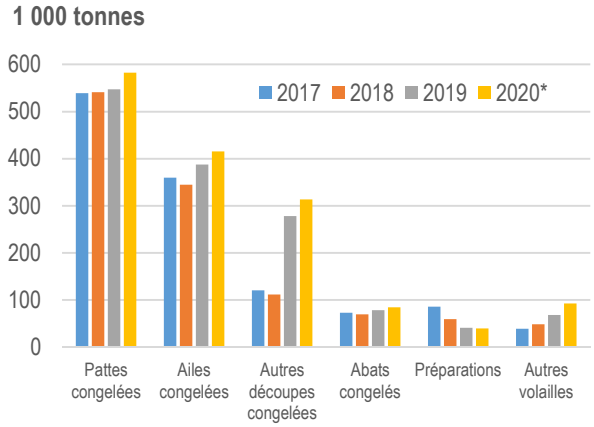


Figure 5 : Importations chinoises de viandes et préparations de volaille – source : ITAVI d'après Trade Data Monitor

L'année 2020 a été l'occasion d'un pic de consommation et d'importation de poulet en Chine. Si les restrictions liées à la pandémie ont pu jouer un rôle dans la modification des habitudes de consommation (fermeture de la restauration hors domicile), c'est surtout l'augmentation du prix du porc (réduction de l'offre consécutivement à la FPA) qui a entrainé un report des achats de viande vers la volaille.

À l'inverse, en 2021, c'est l'augmentation de la production domestique de porc qui a affecté la filière volaille. D'une part, car le prix de la viande a baissé dans tout le pays, et que les consommateurs chinois sont revenus à la viande de porc. D'autre part, car le prix de l'alimentation animale a fortement augmenté par rapport à 2020, affectant la rentabilité des élevages avicoles de petites et moyennes dimensions (notamment ceux qui s'étaient convertis suite à l'abattage de leur cheptel porcin). Comme pour le porc, une partie de ces élevages devraient disparaitre au profit d'exploitations plus grandes et plus spécialisées.

À plus long terme, la consommation de ces volailles traditionnelles issues d'élevages de petites ou moyennes dimensions sera impactée par la suppression (progressive) de l'abattage et la vente de volailles vivantes sur les marchés alimentaires ; et par l'essor des souches hybrides, plus adaptées à des filières d'abattages organisées (homogénéité et effectifs les lots, performances techniques).

D'autres facteurs, liés à la consommation domestique devraient attirer les consommateurs chinois vers la volaille. Dans les villes, la hausse brutale des achats alimentaires en ligne et l'augmentation des achats en restauration hors domicile (estimé entre 15 % et 20 % de la consommation de volailles en Chine) pourrait favoriser à terme les découpes désossées, et donc la

filière poulet blanc au détriment des filières de poulet traditionnel.

La volaille est également considérée plus saine que les autres viandes, critère qui devient de plus en plus important pour une partie des consommateurs chinois.

En 2022, les importations devraient encore se voir limitées par le retour de la viande de porc et l'augmentation de la production domestique en poulet blanc et poulet hybride. Dans son bulletin de janvier 2022, l'USDA estime que les importations de volailles de la Chine seront plus faibles d'environ 11 % par rapport à 2021. La volaille d'importation, sur laquelle s'étaient reportés une partie des consommateurs chinois, devrait attendre quelques années avant de retrouver son niveau historique de 2020.

Peu développées, les exportations chinoises de volailles existent et croissent peu à peu sur les découpes désossées et les préparations à destination de Taïwan (env. 30 % des exportations chinoises en volumes), du Viêt-Nam (env. 30 %) et du Japon (env. 23 %). En décembre 2019, la Chine a également obtenu le droit d'exporter des plats préparés à base de volaille vers les Etats-Unis.

La place de la Chine sur le marché de la volaille ne doit pas être surestimée. La baisse de demande chinoise ne devrait empêcher ni le Brésil d'atteindre son record d'exportations en 2022, ni la croissance de l'import-export international de poulet (de plus 3% en 2022, selon l'USDA). L'instabilité pour les marchés provient surtout des nombreux foyer d'IAHP à travers le monde (ECDC, 2021), qui contraignent la production des exportateurs. Cette diminution de l'offre risque de s'accompagner d'une hausse des coûts, au profit de la production domestique chinoise.

B. Le Brésil indemne, compétitif mais contraint

Le Brésil avait été favorisé par les restrictions imposées par la Chine sur les États-Unis en 2015 (pour des raisons d'IAHP). Ensuite, les exportations brésiliennes de volailles on fait face à plusieurs scandales sanitaires en 2017 et 2018 (*carne fraca*, fraude sur la certification sanitaire) ainsi qu'à des grèves intérieures. Plus récemment en 2019 des infections aux salmonelles aux Pays-Bas ont été liées aux importations de poulet congelé en provenance du Brésil.

À l'issue de ces scandales, la Chine avait dans un premier temps retiré plusieurs entreprises brésiliennes de la liste des établissements agréés pour l'export, pour ensuite lever ces restrictions face aux impacts attendus de la FPA.

En revanche les entreprises brésiliennes se sont engagées dans un processus dit de *price undertaking* (engagement sur les prix) qui consiste à vendre des produits au-dessus d'un prix minimum négocié entre les parties afin d'éviter de concurrencer trop fortement la production du pays importateur et de se voir appliquer des droits *antidumping*. (*Hercule, 2020*)

Le repli des exportations en provenance du Brésil en 2017 (-0,1 Mt) et 2018 (-0,2 Mt) a été suivi d'une hausse des exportations brésiliennes vers la Chine et Hong-Kong en 2019 (+0,1 Mt, +41 % par rapport à 2018) et en 2020. La baisse du prix de l'aliment a également assuré des coûts de production en baisse sur cette période, favorable aux acteurs brésiliens.

En 2022, le Brésil, toujours indemne de l'IA, ne devrait pas voir ses exportations vers la Chine affectées. Au global, les exportations brésiliennes devraient même atteindre leur record historique : 1,3 Mt (+3 % par rapport à 2021).

L'incertitude se situe sur d'autres marchés pour les acteurs brésiliens. D'une part au Proche et Moyen-Orient, où les capacités de production les standards sur le halal se sont progressivement accrues. D'autre part, vers l'Union européenne où plusieurs entreprises brésiliennes ont été retirées de la liste des exportateurs agréés suites aux récents scandales sanitaires.

C. Le retour des États-Unis : pattes et génétiques

Pour les États-Unis, avant restrictions, les exportations de viande de volaille vers la Chine représentaient seulement 10 % (en volume) de leurs exportations. Cependant, le marché chinois est particulièrement intéressant pour une bonne valorisation de certains morceaux (pattes, ailes et abats) qui ne trouvent pas de débouchés sur d'autres marchés.

Suite à l'épisode d'IAHP de 2015, les restrictions imposées par la Chine ont fait chuter les exportations de 0,6 Mt soit 30 % des exportations. En novembre 2019 après 5 ans d'embargo, la Chine a redonné l'agrément export à 170 abattoirs, provoquant une remontée des prix intérieurs aux États-Unis.

Les restrictions ont été levées en avril 2020, dans le cadre d'un accord commercial. Les exportations étatsuniennes de volailles vers la Chine (principalement des pattes) se sont envolées (+ 37 000 tonnes / avr.-2019). La part de la Chine dans leurs exportations est passée à environ 20 % en 2020 (contre 8% en 2018). S'il existe des barrières tarifaires à l'importation de viande de volailles issues des États-Unis, de nombreuses entreprises ont obtenu des dérogations. En 2021, les exportations

étasuniennes ont réussi à se maintenir malgré la baisse de la demande chinoise.

Avec la levée des restrictions, l'autre enjeu pour les États-Unis était de récupérer le marché de la génétique sur lequel ils détenaient un quasi-monopole avant 2015. La demande exceptionnelle pour les parentaux en Chine de 2020 (estimée à +30 %) a facilité le retour des États-Unis.

En 2021, la contraction de la demande (-10 %), n'a pas empêché les États-Unis d'augmenter leurs exportations de génétique et d'obtenir 30% des parts de marché.

Pour 2022, la génétique restera un secteur important pour les États-Unis. En parallèle, leurs exportations de viandes de volailles vers la Chine devraient être relativement stables. La baisse de demande chinoise devrait peu les affecter, car celle-ci sera compensée par la baisse d'offre européenne.

Le risque sanitaire n'est pas nul pour les États-Unis, mais un accord de régionalisation signé en mars 2003 avec la Chine pourrait en limiter les impacts le cas échéant. (USDA APHIS, 2020).[7]

CONCLUSION

Depuis 2000, la demande en viande de volailles de la Chine évolue au rythme de crises sanitaires (aviaire, porcines, humaines, en Chine ou ailleurs), de l'élévation du niveau de vie, des changements d'habitudes de consommation, et des priorités des autorités chinoises. Les crises sanitaires (en Chine ou ailleurs) et leur gestion ne vont pas mettre un terme à la consommation de volailles en Chine, mais complexifient les investissements dans le secteur et la visibilité des exportateurs souhaitant accéder à ce vaste marché en croissance.

Désormais, la consommation de volailles en Chine est d'environ 12 kg par habitant. Le type de volaille concerné varie beaucoup selon la catégorie socio-culturelle. Par exemple, les urbains se tournent de plus en plus vers le poulet blanc issus d'exploitations industrielles de grande dimension.

Il existe une offre domestique importante, puisque depuis les années 80, la production chinoise s'est fortement industrialisée. Ce processus devrait se renforcer dans les prochaines années, sous l'impulsion des autorités pour qui l'enjeu sanitaire rejoint celui de l'autosuffisance alimentaire.

L'année 2020, a été marquée par l'épidémie de COVID-19 qui s'est répandue depuis la Chine à partir de décembre 2019 (principalement dans la province du Hubei). Pour les filières volailles, l'année 2020 a surtout donné lieu à un pic de consommation lié aux perturbations de la FPA sur les filières porcines (moins d'offre, prix plus élevé, report sur la volaille).

Les autorités renonçant à certaines restrictions ont favorisé l'importation de viandes, même si celles-ci n'ont pas réussi à répondre entièrement au très large déficit de protéines animales de 2019 à 2020. Les importations ont quasiment doublé en un an, au profit des exportateurs bien implantés (acteurs brésiliens et asiatiques) et des États-Unis, de retour après 5 ans de restrictions.

L'année 2021 a vu la viande de porc récupérer sa part dans la consommation des ménages, ou presque. Car la volaille bénéficie d'une image de viande plus saine pour les consommateurs chinois, qui par ailleurs, consomment de plus en plus de poulet blanc dans la restauration hors domicile, la livraison et les produits élaborés.

À long terme, la production de volailles chinoise devrait évoluer vers une consolidation des filières, notamment autour de la maitrise des outils d'abattage et l'accroissement des capacités de stockage qui prendront le pas sur la vente d'animaux vifs. Pour les exportateurs, le marché chinois représentera toujours un moyen de valoriser la partie de la carcasse qui n'est pas consommée par les occidentaux. C'est aussi un marché dynamique pour la génétique, qui fait l'objet d'une attention particulière des autorités, et où il n'est pas exclu que des acteurs chinois deviennent exportateurs.

[7] À noter que la Russie est également parvenue à un tel accord.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABCIS, Fièvre Porcine Africaine : impact sur les marchés mondiaux des viandes et perspectives, 2020

ECDC European Centre for Disease Prevention and Control, Avian influenza overview September – December 2021,[en ligne]. Disponible à l'adresse : https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/avian-influenza-overview-september-december-2021

CHAN, Paul K. S., 2002. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1 mai 2002. Vol. 34 Suppl 2, pp. S58-64. DOI 10.1086/338820.

CHEN, Yulian, QIAO, Yan, XIAO, Yu, CHEN, Haochun, ZHAO, Liang, HUANG, Ming et ZHOU, Guanghong, 2015. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 23 décembre 2015. Vol. 29, n° 6, pp. 855□864. DOI 10.5713/ajas.15.0840.

HERCULE. J, Fièvre porcine africaine : Quelles opportunités à l'export pour les filières avicoles ? 2020. [en ligne].
Disponible à l'adresse : https://www.itavi.asso.fr/publications/fievre-porcine-africaine-quelles-opportunites-a-l-export-pour-les-filieres-avicoles?search=hercule&order=date

La France Agricole, La Chine veut bannir les volailles vivantes de ses marchés, 2020. [en ligne]. Disponible à l'adresse : https://www.lafranceagricole.fr/actualites/elevage/crise-sanitaire-la-chine-veut-bannir-les-volailles-vivantes-de-ses-marches-1,0,438243754.html

Le Figaro, Après le scandale sanitaire en Chine, McDo change son menu au Japon, 2014.. Disponible à l'adresse : https://www.lefigaro.fr/societes/2014/08/03/20005-20140803ARTFIG00060-apres-le-scandale-sanitaire-en-chine-mcdo-change-son-menu-au-japon.php

MAGDELAINE. P, L'aviculture chinoise à la croisée des chemins - *ITAVI TeMA*, 2017. [en ligne]. Disponible à l'adresse :https://www.itavi.asso.fr/publications/l-aviculture-chinoise-a-la-croisee-des-chemins-tema?search=magdelaine&order=date

McKinsey, What Chinese consumers want from fresh-food retailers, 2020. [en ligne]. Disponible à l'adresse : https://www.mckinsey.com/industries/retail/our-insights/what-chinese-consumers-want-from-fresh-food-retailers

USDA Foreign Agricultural Service, Livestock and Poultry: World Markets and Trade. [en ligne]. Disponible à l'adresse : https://www.fas.usda.gov/data/livestock-and-poultry-world-markets-and-trade

USDA APHIS | APHIS Leadership Signs Poultry Regionalization Agreement with China, 2020. [en ligne]. Disponible à l'adresse : https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/stakeholder-info/sa_by_date/sa-2020/sa-03/poultry-agreement-china

SESSION

ECONOMIE – SOCIOLOGIE

Communications orales

AGRICULTURES BRETONNES 2040

Quelles transitions pour les entreprises avicoles bretonnes ?

Elodie Dezat[1], Delphine Scheck[1], Maud Marguet[1], Céline Favé[1], Hervé Le Goff[1], Charlotte Quénard[1], Lionel Quéré[1], Laurence Ligneau[1], Hervé Gorius[1], Geneviève Lamour[1], Arnaud Haye[1], Nicolas Debéthune[1],

[1]CHAMBRE REGIONALE D'AGRICULTURE DE BRETAGNE - CS 74223 – 350042 RENNES Cedex, France
elodie.dezat@bretagne.chambagri.fr

RÉSUMÉ

De nombreuses études portent sur l'avenir de l'agriculture, mais elles ne sont pas toujours portées ou appropriées par le monde agricole alors qu'elles soulèvent des questionnements et des remises en causes du secteur agricole. Pilotée par les élus et collaborateurs de la Chambre d'agriculture, cette étude a pour objectif d'explorer les futurs possibles pour les filières bretonnes à l'horizon 2040. En premier lieu, des diagnostics par filière ont été réalisés, puis les variables d'influence sur l'avenir de l'agriculture bretonne ont été identifiées. Enfin, cinq scénarios prospectifs ont été construits.

Les éléments qui ressortent des diagnostics sont pour le passé un manque d'organisation, d'anticipation et de stratégie collective des filières. Des investissements lourds ont été réalisés, sans que cela ne se traduise par une meilleure rémunération. Pour l'avenir se pose la question des modèles de productions, de leur rentabilité de l'évolution des pratiques, ainsi que le renouvellement des générations.

Cinq scénarios ont été construits, après l'identification de 24 variables. Le scénario tendanciel décrit une agriculture bretonne aux marges de manœuvre limitées ; les règles environnementales et le non renouvellement des actifs entraînent un déclin de l'élevage. Dans le scénario alternatif, le climat conditionne la production, sans déprise imposée de l'élevage. Les déterminants des trois autres scénarios sont un pilotage par les territoires, une agriculture productive dans un contexte de priorité donnée à l'économie ou une agriculture plus végétale.

Dans une majorité de scénarios, l'aviculture se maintiendra en Bretagne, que ce soit pour des raisons de conditions climatiques ou d'acceptabilité des élevages. Cependant les évolutions sur l'attractivité des métiers, la concurrence et la compétitivité à l'international, ou une végétalisation massive pourront impacter les productions de viande de volailles ou d'œufs.

ABSTRACT

Agriculture in Britanny in 2040 – What are the transitions in poultry sector ?

Numerous studies focus on the future of agriculture, but are not always constructed with the agricultural sector.

The objective of this study is to explore the possible futures for the agriculture in Brittany by 2040. Firstly, diagnostics by sector were carried out, then the variables of influence on the future of agriculture have been identified. Finally, five scenarios were constructed.

The elements that emerge from the diagnostics are for the past a lack of organization, anticipation and collective strategy of the sectors. Heavy investments were made, without better remuneration. For the future, the question arises of production models, their profitability, the evolution of practices that will be linked, as well as the renewal of generations.

Five scenarios were constructed, after identifying 24 variables. The trend scenario describes an increase in environmental rules and the non-renewal of assets which lead to a decline in animal breading. In the alternative scenario, the climate impacts agriculture, but livestock remains in Brittany. The determinants of the other three scenarios are an agriculture piloted by the territories, productive agriculture, or a plant-based agriculture.

In a majority of scenarios, poultry production will be maintained in Brittany, whether for reasons of climatic conditions or the acceptability of farms. However, changes in the attractiveness in agricultural jobs, international competitiveness, or massive revegetation may impact the production of poultry meat or eggs.

INTRODUCTION

La décision de mener une étude prospective portant sur toutes les filières agricoles bretonnes, fait suite à plusieurs constats.

Tout d'abord de nombreuses incertitudes pèsent sur l'avenir des productions, qu'elles soient internes (attractivité des métiers, appropriation de nouvelles technologies…) ou externes (attentes sociétales, politiques des territoires…).

Ensuite, l'avenir de l'agriculture est exploré dans de nombreuses études, sans que les acteurs du monde agricole et agroalimentaire ne soient parties prenantes alors même que les questionnements peuvent remettre en cause leurs activités.

C'est ainsi que les responsables professionnels des Chambres d'agriculture de Bretagne ont fait part de leur besoin d'une réflexion construite avec les agriculteurs et les entreprises agroalimentaires, qui intègre la complexité et la diversité des enjeux et permette de se projeter sur le long terme.

1. MATERIELS ET METHODES

La prospective est une démarche visant à explorer les futurs possibles afin d'identifier les enjeux de demain, et ainsi éclairer les décisions à prendre.

Le choix a été fait de ne pas se fixer d'obligation de résultats environnementaux, économiques ou sociaux.

L'étude a été menée par un groupe de travail technique coordonné par le service économie-emploi de la Chambre régionale d'agriculture de Bretagne, avec une implication forte des élus professionnels.

La démarche s'est décomposée en quatre grandes étapes :

- La construction de diagnostics par filière, basés sur des éléments bibliographiques et des entretiens. Ils ont été complétés par des diagnostics d'approfondissement, notamment auprès d'acteurs des territoires.
- L'identification des variables d'influence et la rédaction de dossiers prospectifs pour chacune d'entre elles.
- La construction et la rédaction de cinq scénarios.
- La réalisation de diagnostics d'impact : chiffrage macro-économique, bilan carbone. Ce dernier point, non finalisé au moment de la rédaction de cet article, ne sera pas présenté.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Diagnostics des filières

Deux diagnostics ont été rédigés, pour les filières volailles de chair et poules pondeuses. Ils se sont appuyés sur de précédentes études et sur la réalisation de douze entretiens auprès d'acteurs des filières.

Le passé

Quelle que soit la production, les entretiens soulignent un manque de clairvoyance sur l'évolution des marchés, avec une vision des acteurs très centrée sur la Bretagne, et qui n'ont pas su voir les signaux faibles (poids des productions alternatives en œuf, difficultés à l'export pour les volailles de chair). Ceci est amplifié par un manque de stratégie collective et de structuration, illustré par exemple par la non anticipation des travaux en 2012 dans les élevages de pondeuses, ou encore par le plan de cessations en volailles de chair qui a conduit à l'arrêt d'ateliers d'un bon niveau technique. Ce manque de structuration se confirme fin 2021 par une surproduction persistante en œufs bio.

Le passé est également marqué par une pression des associations et ONG dont les demandes vont au-delà du réglementaire. Cela oriente les décisions des acteurs économiques, distribution et restauration notamment.

Les filières avicoles se sont développées hors Bretagne, que ce soit par des capacités de productions en élevage, ou par un déplacement des centres de décision (notamment en volailles de chair). Les relations contractuelles sont régulièrement questionnées.

Un gros point d'inquiétude est le difficile renouvellement des actifs. Du côté des points positifs, le métier d'aviculteur a évolué avec une amélioration des conditions de travail.

Dans les filières volailles de chair, la réorientation des productions en lien notamment avec des pertes de marché (poulet export, dinde) et une prise de conscience tardive du potentiel de la restauration hors domicile ont été impactantes. Le manque de rentabilité économique explique en partie le creux dans les installations en volailles de chair.

L'impact le plus important pour la filière œuf est la mise aux normes de 2012, qui laisse encore des traces aujourd'hui. Les investissements ne sont pas encore amortis que les cages sont en passe d'être abandonnées.

Les tendances pour l'avenir

Le taux de renouvellement insuffisant des exploitants entraînera une plus grande spécialisation des éleveurs et des exploitations plus grandes, ce qui pose question concernant les capacités d'endettement ou les oppositions aux projets d'élevage. Les filières auront également besoin de formations adaptées. Les attentes sociétales vont se renforcer. L'étiquetage bien-être se mettra en place tout comme l'ovosexage ; ces

évolutions auront des incidences sur la génétique. Les politiques publiques continueront leur verdissement.

En volailles de chair, la réussite de la filière sera conditionnée à la réussite d'un mode d'élevage (poulet lourd). Des questions se posent sur la segmentation du poulet « premium » et la place de la dinde. Les parts de marché resteront très concurrencées.

En production d'œufs, la transition vers l'alternatif devrait aboutir d'ici 2025-2030. Deux modèles d'élevages de pondeuses en agriculture biologique devraient co-exister, avec des tailles et une autonomie alimentaire différentes. Des évolutions de consommation notamment la hausse de consommation en œufs coquille devrait s'inscrire dans la durée.

2.2. Facteurs d'évolution

Le groupe de travail a identifié vingt-quatre facteurs d'évolution pour les filières à horizon 240. Ils ont été regroupés en huit familles.

- **Entreprises agricoles et ressources humaines** : ressources humaines, modèles économiques, accompagnement (recherche, conseil, formation).
- **Techniques et productions agricoles** : technologies (numérisation, robotisation big data), intrants et pratiques, productions non alimentaires.
- **Changement climatique et ressources** : changement climatique, énergies, le temps, ressources naturelles.
- **Politiques publiques** : politiques agricoles, politiques non agricoles, gouvernance locale.
- **International** : marchés agricoles mondiaux, mondialisation et accords commerciaux.
- **Territoires** : accès à l'eau, géographie agricole et agroalimentaire, population bretonne.
- **Consommateurs citoyens** : implication citoyenne, attentes des consomm'acteurs, rapport au prix.
- **Marchés et filières** : modes de distribution, organisation de filière et relations, segmentation.

Pour chacun des facteurs, un dossier prospectif a été rédigé. Chacune des variables y a été analysée en profondeur, sa rétrospective a été décrite, les dynamiques actuelles et trois hypothèses d'avenir y ont été identifiées (tendancielle, alternative, de rupture).

C'est ce qui a constitué le squelette pour la construction des scénarios, où les hypothèses ont été combinées.

2.3. Les scénarios

Avant de présenter les scénarios construits, un préambule est nécessaire concernant la prise en compte du changement climatique.

Les modèles actuels nous disent qu'à l'horizon 2050 les évolutions du climat sont déjà connues. Les actions menées n'auraient donc d'impacts significatifs qu'au-delà de 2050. D'ici 2040 les tendances se seront poursuivies en Bretagne : élévation des températures surtout l'été et le printemps, augmentation de la variabilité climatique et du risque de survenue des températures extrêmes, déficit hydrique qui se creuse l'été.

Scénario 1 – Une agriculture bretonne en mode résistance

Ce scénario est notre scénario tendanciel.

En 2040, l'agriculture bretonne est sous contrainte avec deux moteurs principaux : le non-renouvellement des actifs et un durcissement des réglementations environnementales. La demande et les marchés mondiaux sont moins dynamiques, avec un ralentissement de la croissance démographique notamment. En vingt ans les règles environnementales se sont durcies en Europe, pénalisant la compétitivité des filières. Sous l'effet de la pression du prix, les filières alimentaires européennes se repositionnent sur le marché intérieur. La contrainte du prix d'achat reste forte pour le consommateur, ce qui ouvre la voie aux importations ; la grande distribution et la restauration orientent les filières. En Bretagne, on observe une dualisation de l'agriculture, notamment en réponse à une problématique de manque de main d'œuvre, avec de petites exploitations positionnées sur des démarches de valeur ajoutées, à côté d'exploitations de taille plus importante. Certaines opportunités, telles que le développement significatif des productions énergétiques, échappent aux agriculteurs.

Ce scénario est celui d'une certaine lassitude, d'un laisser-faire et d'opportunités saisies par d'autres. C'est également celui d'une adaptation lucide des agriculteurs aux réalités des marchés.

Scénario 2 - L'agriculture vise la neutralité carbone

En 2040, les productions se relocalisent en Europe. La sensibilité au dérèglement climatique est grandissante. Des règlementations européennes intégrant d'avantage les enjeux climatiques, environnementaux et la biodiversité ont été mises en place. La demande alimentaire évolue, ajoutant des préoccupations autour de la santé. La consommation évolue avec moins de protéines animales et plus de protéagineux.

La Bretagne assume sa vocation d'élevage et s'affirme comme un bassin de production bas carbone ; la sylviculture est redynamisée.

La survenue de ce scénario serait favorisée par l'application d'une taxation carbone sur les énergies fossiles et par des effets visibles par les citoyens du dérèglement climatique. A l'inverse, une hausse trop forte sur le prix de l'alimentation et des oppositions à une agriculture technologique et productive seraient des freins.

Scénario 3 – Une agriculture bretonne territorialisée

En 2040 des systèmes alimentaires plus locaux sont observés partout dans le monde. Avec la fin de l'expansion du libre-échange, les territoires deviennent une valeur refuge. La politique agricole française axée sur la souveraineté de l'alimentation se décline dans les territoires, avec en Bretagne une priorité donnée à l'accès de tous à une offre alimentaire locale de qualité.

Les filières bretonnes se désinvestissent du marché mondial.

Les métiers de l'agriculture retrouvent une attractivité. Le nombre d'élevages diminue, les structures sont plus diversifiées, les entreprises agricoles restent de taille moyenne. La transformation agroalimentaire réduit ses activités.

Ce scénario n'est pas celui d'une autarcie, la Bretagne reste connectée au reste de la France et exporte encore, mais sur de plus petits volumes. Il exige un engagement politique et financier fort des pouvoirs publics.

Scénario 4 – Priorité à l'économie

L'agriculture et l'agroalimentaire sont devenus des leviers importants de la croissance. Durant la décennie 2020, la France est plongée dans une grave crise économique. La France reprend en main la politique agricole, la région Bretagne et les collectivités accompagnent ce mouvement. L'objectif est la productivité, en faisant notamment le pari des technologies. La vocation d'élevage est confirmée pour la Bretagne. Les filières renforcent leurs parts de marché à l'international. Les exploitations agricoles et les industries agro-alimentaires sont métamorphosées, tant au niveau des investissements, que des capitaux qui ne sont plus détenus par les exploitants eux-mêmes. L'intégration se développe dans les filières hors volailles.

La survenue de ce scénario est favorisée par une baisse du prix des technologies et un choix politique de favoriser la production.

Scénario 5 – Une agriculture bretonne plus végétale

Les politiques publiques donnent priorité au climat et à l'environnement. La demande en protéines animales recule entraînant un repli de l'élevage breton, et une augmentation des productions végétales. Le nombre d'actifs agricoles régresse, les jeunes générations aspirent à maîtriser leur temps (y compris les agriculteurs eux-mêmes). Les surfaces libérées sont consacrées aux grandes cultures, aux productions biosourcées, à la production d'énergie et à la sylviculture. L'essor de ces cultures végétales est dû en partie au recul de l'élevage, mais aussi à leur intérêt pour le climat : fixation de l'azote atmosphérique, stockage du carbone, amélioration de l'autonomie protéique des élevages, ...

Les modèles économiques sont diversifiés avec de grandes exploitations (automatisation, grands volumes) qui cohabitent avec des entreprises de taille plus modeste. Cela pose question sur l'impact pour la Bretagne en termes de paysages, de durabilité des systèmes et de localisation de la première transformation.

2.4. Résultats à venir

Le point de vue de l'agroalimentaire

Afin d'ancrer l'étude dans la réalité concrète des filières agricoles et agroalimentaires, l'ensemble de ces réflexions ont été partagées avec des industriels de l'agroalimentaire breton, notamment de la filière avicole. Cette phase d'entretiens est toujours en cours lors de la rédaction de cet article, mais de premières tendances peuvent déjà être identifiées sur les enjeux de demain.

Au vu de l'évolution de la population mondiale et de la raréfaction des surfaces agricoles, les industriels s'attendent à un dynamisme toujours plus important des marchés mondiaux. Il pourrait être favorable aux marchés et aux débouchés des produits agricoles et agroalimentaires bretons suivant les capacités régionales d'abattage qui pourraient se voir affectées par deux facteurs principaux.

Déjà très sensible à l'heure d'aujourd'hui en 2020, le manque de main d'œuvre en usine pourrait générer des baisses d'activité d'ici 2040. Face à des difficultés de recrutement, l'orientation de l'agriculture et l'agroalimentaire breton pourrait se faire en faveur du système végétal qui possède une meilleure valorisation horaire. Un engagement fort sur l'amélioration de l'attractivité des métiers dans les filières animales est nécessaire pour assurer le renouvellement des générations.

Autre frein : les oppositions aux projets de développement ou de création d'entreprises. Selon les scénarios et selon les filières, les volumes de production pourraient augmenter d'ici 2040. Les industriels estiment que cela dépendra surtout de la capacité collective à agrandir ou à construire de nouveaux élevages qui subissent aujourd'hui trop souvent des oppositions sociétales.

Enfin, certains industriels estiment que diminuer l'élevage ne répondra pas aux problèmes environnementaux et pourra engendrer, à terme, un appauvrissement de la Bretagne. Ils sont prêts à s'engager pour améliorer leur empreinte carbone afin de répondre aux enjeux du défi climatique. Cependant, ils indiquent qu'un accompagnement financier sera nécessaire, car la modernisation dans cet objectif nécessitera des investissements importants.

Le chiffrage des scénarios

Le chiffrage de ces scénarios est toujours en cours, notamment via la réalisation d'un diagnostic Climagri® (chiffrage énergie et gaz à effet de serre) pour le second scénario.

CONCLUSION

Quels que soient les scénarios, même ceux qui imaginent un recul des protéines animales, les productions avicoles résistent relativement mieux que les autres filières en Bretagne. Ainsi, même dans les scénarios où les productions avicoles sont en recul au niveau français, le grand ouest restera l'une des principales zones de production. Leurs atouts sont nombreux, et l'on peut citer par exemple un bilan carbone favorable, une protéine abordable pour le consommateur et une bonne image des viandes blanches et des œufs. D'autres études (Poux *et al*., 2018) sont moins confiantes sur le maintien de l'élevage avicole au niveau européen, partant sur une réduction des exportations, un système alimentaire plus favorables aux productions herbivores (maintien des prairies, moindre compétition pour des matières premières à destination de l'alimentation humaine).

Les filières avicoles continueront à s'adapter aux évolutions des attentes sociétales. Toutefois, il faudra s'attacher à les concilier avec une logique économique viable. Sans ce préalable valable pour tous les scénarios, le renouvellement des générations en aviculture restera difficile et la pérennité de l'élevage avicole en Bretagne pourrait en être menacée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Poux, X., Aubert, P.-M. 2018. Une Europe agroeéologique en 2050 : une agriculture multifonctionnelle pour une alimentation saine. Enseignements d'une modélisation du système alimentaire européen, Iddri-AScA, Study N°09/18, 78 p.

LA FILIERE AVICOLE EN ALGERIE. ACQUIS, CONTRAINTES ET ENJEUX

KACI Ahcène [1]
[1] Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Hassan Badi, El Harrach , 16200, Alger, Algérie, kaciahcne@gmail.com

RÉSUMÉ

Depuis les années 70, les pouvoirs publics algériens ont mis en œuvre différents programmes de développement pour promouvoir la filière avicole intensive. La stratégie développée consistait à mettre en place les infrastructures de production des facteurs de production (aliment, matériel biologique, …) grâce aux offices. Le programme en date est celui du renouveau agricole et rural lancé en 2009.
Cette stratégie a permis certes de réaliser l'autosuffisance en viandes blanches (12 Kg / Hab/An) et en œufs de consommation (144 Œufs par Hab /An) mais au prix d'une dépendance vis-à-vis du marché mondial en intrants avicoles (Maïs, tourteaux de soja, produits vétérinaires, poussins parentaux) et en matériel d'élevage.
La présente communication vise à dresser l'état des lieux de la filière avicole algérienne en mettant l'accent sur les acquis réalisés, les problèmes rencontrés par les acteurs de la filière dans le cadre du nouveau contexte mondial caractérisé par la crise sanitaire, la volonté des Etats de relancer leurs économies tout en s'inscrivant dans le développement durable agricole et rural.
Sur le plan méthodologie, des enquêtes systématiques ont été effectuées durant la période (2006 – 2020) auprès des acteurs de la filière avicole en Algérie. Les résultats ont été obtenus grâce aux entretiens réalisés avec les cadres des institutions et aux questionnaires soumis aux acteurs concernés.
Ils montrent que les performances des entreprises restent en deçà des normes recommandées» et que les acteurs des différents segments manquent d'une stratégie commune pour une meilleure coordination de la filière.
Les coûts de production obtenus sont relativement élevés. Ce qui rend la chaîne de valeur peu performante.
On en déduit la nécessité d'une remise en cause de la stratégie développée jusqu'à actuellement pour repartir sur de bonnes bases en impliquant l'interprofession.
MOTS CLES : filière avicole – itinéraire techniques – Performances – Algérie

ABSTRACT:
Since the 1970s, the Algerian government has implemented various development programs to promote the intensive poultry industry. The strategy developed consisted of setting up the infrastructure of production factors (food, biological material, etc.) through the offices. The applied program is the agricultural and rural renewal one launched in 2009. This strategy has certainly enabled the country to achieve self-sufficiency in white meat (12 kg per capita per year) and in eggs for consumption (144 eggs per capita per year) but at the cost of dependancy on the world market for poultry inputs (corn, soybean meal, veterinary products, parent chicks) and breeding equipment. This present communication aims at drawing up the state of the art Algerian poultry sector by emphasizing the achievements, the problems encountered by the actors of the sector within the framework of the new world context characterized by the sanitary crisis, the will of the State's will revive their economies while being part of the agricultural and rural sustainable development. On the methodological level, systematic surveys were carried out during the period (2006 - 2020) with the actors of the poultry sector in Algeria. The results were obtained through interviews with institutional executives and questionnaires submitted to the actors concerned. They show that the performance of the companies remains below the recommended standards" and that the actors of the various segments lack a common strategy for a better coordination of the sector. The production costs obtained are relatively high. This has made the value chain inefficient. We deduce the need to question the strategy developed until now to start again on good bases by involving the interprofession.
KEYWORDS: poultry sector - technical itinerary - Performance - Algeria

INTRODUCTION

Depuis les années 70, les pouvoirs publics algériens ont mis en œuvre différents programmes de développement pour promouvoir la filière avicole intensive afin de répondre au besoin de populations en protéines animales. La stratégie développée consistait à mettre en place les infrastructures de production des facteurs de production (aliment, matériel biologique, produits vétérinaires) grâce aux offices dans un premier temps. L'aval de la filière est pris en charge en grande majorité (70 %) par le secteur privé. Le programme en date est celui du renouveau agricole et rural lancé en 2009.

Cette stratégie a permis certes de réaliser l'autosuffisance en viandes blanches (12 Kg / Hab/An) et en œufs de consommation (144 Œufs par Hab /An) mais au prix d'une dépendance vis-à-vis du marché mondial en intrants avicoles (Maïs, tourteaux de soja, produits vétérinaires, poussins parentaux) et en matériel d'élevage.

L'objectif de ce papier est de faire l'état des lieux de la filière avicole algérienne en mettant l'accent sur les acquis réalisés, les problèmes rencontrés par les acteurs de la filière dans le cadre du nouveau contexte mondial caractérisé par la crise sanitaire, la volonté des Etats de relancer leurs économies tout en s'inscrivant dans le développement durable agricole et rural.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Un contexte de la filière en mutation

L'aviculture algérienne a produit 537240 tonnes de viandes blanches et 6,335 milliards d'œufs de consommation en 2020 (MADR, 2021). La structure interne de la filière est constituée des filiales du Groupe ONAB (Office National des Aliments du Bétail) et une multitude d'opérateurs privés. Ces deniers exercent en grande majorité leurs activités dans l'informel. Ils contrôleraient plus de 70 % du marché interne (KACI, 2014). Les segments constitutifs de la filière avicole sont les Fabricants d'aliment de volaille (512), les grands parentaux (02), les élevages de reproducteurs chair (577), les reproducteurs dinde (5), les accouveurs chair (158), les accouveurs dinde (02), les élevages de poulets de chair (22000), les élevages de poules pondeuses (6000), les élevages de dinde chair (3000), les abattoirs et tueries particulières (539) et les marché de gros (3151) et de détails de poulet et d'œufs (8252) (CNRC, 2020).

Pour atténuer la dépendance vis-à-vis des marchés extérieurs en intrants avicoles (maïs, tourteaux de soja, oligo-éléments, matériel avicole), certains groupes privés, à l'image des groupes BELLAT, BOUZIANI, MAHI, MESSANI, KHERBOUCHE, KHIDER,… ont consenti des investissements en construisant des complexes avicoles, des abattoirs sophistiques, des grands centres d'élevage de plus 200000 sujets, dans le cadre d'une stratégie d'intégration. Cependant, la maîtrise des flux d'approvisionnement des marchés reste insuffisante en l'absence de régulation par les agents collectifs. Cette situation entraîne une instabilité des prix durant toute l'année.

1.2. Méthode d'administration de la preuve

Sur le plan méthodologie, nous avons adopté l'approche filière.

Le modèle d'analyse appliqué dans le cadre du présent article s'appuie sur *l'approche filière*. On entend par filière « l'ensemble des systèmes d'acteurs directement impliqués à tous les stades de l'élaboration du produit » (Jez et al., 2009).

Le concept de filière nous dispose d'un instrument d'analyse pertinent : une démarche systémique qui tient compte, de manière intégrée, de tous les maillons au niveau de la chaîne agro-alimentaire (amont, production, transformation, commercialisation) et de tous les acteurs et leurs stratégies.

Selon temple et al. (2011), le concept de filière « est une catégorie économique alternative et complémentaire à la notion de branche ou de secteur proposant un découpage du système productif pour mieux comprendre les dynamiques d'émergence, de déclin et de reconfiguration de ses composantes.

Pour le cas de l'aviculture, la filière « s'étend de l'amont de la production aux marchés de consommation finale, incluant la fabrication d'aliment, la sélection-multiplication, les abattoirs, les ateliers de découpe, les centres d'emballage des oeufs et de production d'ovoproduits,... » (Jez et al, 2009).

Pour ce qui de la démarche méthodologique, des enquêtes systématiques ont été effectuées durant la période (1987 – 2020) auprès des acteurs de la filière avicole en Algérie. Les performances, les itinéraires techniques et les contraintes organisationnelles et institutionnelles ont été enregistrés grâce aux entretiens réalisés avec les cadres des institutions et aux questionnaires soumis aux acteurs concernés

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Des acquis, mais beaucoup reste à faire

La filière avicole fonctionne actuellement avec des opérateurs privés et public assurant l'approvisionnement des villes en produits avicoles au prix d'une dépendance structurelle vis-à-vis des marchés extérieurs. Selon le CNIS (2021), la facture d'importation des intrants avicoles représente 1,5 milliards de dollars).

Certains acquis sont réalisés tels que l'autosuffisance en produit final, l'existence d'infrastructures de production, le savoir-faire local en matière d'itinéraire technique.

Cette filière dégage une valeur de la production de 74,192 milliards de dinars, emploie 220000 personnes et fait vivre 1,400 millions de personnes.

Néanmoins, beaucoup d'efforts restent à faire tels que l'adaptation des mesures de la biosécurité des bâtiments d'élevage face à la résurgence de certaines maladies telles que Marek, Coccidiose, Newcastle, Gumboro,.. qui ont décimé un grand nombre du cheptel surtout lors de la période de covid 19, la garantie de la régularité des approvisionnements des marchés, l'organisation de la filière pour une meilleure maîtrise des flux (planification des mises en place, favorisation de l'économie contractuelle,…) l'amélioration de la productivité des facteurs utilisés (Index de production = 206± 5 en 2020), substituer, en partie, le maïs et les tourteaux de soja importés par des produits d'origine locale (orge, triticale, blé fourrager, etc., pour les céréales et féverole, poids fourrager, lupin pour le cas de certaines légumineuses),….

La forte hausse de prix d'aliment provoqué par le contexte inflationniste actuel a fortement impacté le marché algérien de volaille (pénurie de viande et de poussins, spéculation, hausse excessive 450 dinars/kg) montre une forte fragilité du secteur.

D'autre part, la crise sanitaire a provoqué la mortalité de près de 1,5 million de poules reproductrices d'œufs à couver (génératrices de poussins de chair). Une perte considérable, enregistrée en mars-avril 2021, a eu un impact direct sur la filière, provoquant une baisse de la production des poussins de chair (destinés à la consommation) et par conséquence une hausse des prix de cet intrant qui s'est répercutée sur les prix du poulet (Boudina, 2021).

Pour ce qui est de la pandémie liée au covid 19, l'impact socio-économique a commencé à être réellement ressenti vers la fin 2020-début 2021 par la baisse des disponibilités en produits avicoles (tableau 2).

Selon une publication de l'ONU (Anonyme, 2020), les secteurs qui auraient été les plus impactés par le Covid-19 sont le commerce de détail et de gros (Restauration), les activités de stockage et de transport ainsi que les industries manufacturières. Sévèrement touchées, ces dernières seraient affectées par la paralysie des chaines d'approvisionnement. Plus précisément, ce sont les Petites et Moyennes Entreprises (PME) et leurs emplois qui ont été les plus vulnérables. Les travailleurs des emplois précaires de l'informel seraient les plus affectés.

2.2. Des contraintes techniques et organisationnelles structurelles

La situation de filière avicole est la résultante de deux principales contraintes structurelles :

2.2.1. Contraintes techniques

Nous résumons les contraintes techniques comme suit :

- Absence de maîtrise des conditions d'ambiance dans les bâtiments dont le climat ainsi que les équipements non conformes ne permettent pas aux animaux d'extérioriser leur potentiel génétique.
- Les performances zootechniques enregistrées sont médiocres (Tableau 1) entraînant des coûts de production excessifs.
- Coûts de production excessifs obtenus dans les élevages de poulets de chair privés dont la moyenne est de 1,19 €/kg de poulet vif. Les charges d'aliment représenteraient près de 80 % de ce dernier.
- Non maîtrise des processus de production dans les industries d'amont et d'aval se manifestant par le manque de financement, la défaillance de systèmes de management et le rôle peu présent de l'Etat en matière d'accompagnement des acteurs concernés.

2.2.2. Contraintes organisationnelles

La filière avicole rencontre des contraintes organisationnelles. Ces dernières se résument en :

- Des élevages avicoles se caractérisant par une structure fortement « atomisée », faiblement coordonnée, marquée par la prédominance des élevages de taille relativement réduite (plus de 70 % de ces derniers ont des capacités se situant entre 3000 et 5000 sujets).
- Dépendance vis à vis des marchés extérieurs en maïs, tourteau de soja, oligo-éléments,… (plus de 1,5 milliards de dollar de facture d'importation) et technologique.
- Prix instables et marchés opaques.
- Absence de mécanismes de régulation des marchés par les agents collectifs et indisponibilité d'un système d'information viable.
- Cherté et mauvaise qualité des intrants (formules alimentaires non optimisées, poussins chétifs et hétérogènes,…).
- Manque de chaîne de froid, poids marginal des produits transformés et déficience des grandes et moyennes surfaces (GMS).

2.3. Quel avenir pour la filière ?

En dépit des contraintes ainsi soulevées, le maintien de l'aviculture intensive s'impose et s'imposera encore pour longtemps en absence de solutions de rechange immédiate.

Cette option suppose, néanmoins, la mise en œuvre de certaines mesures visant à améliorer le fonctionnement de cette filière avicole dans son ensemble. On peut citer :

- L'atténuation de la dépendance vis-à-vis du complexe maïs – soja par l'utilisation, en partie, des matières premières et sous-produits locaux.
- La rationalisation du fonctionnement des ateliers avicoles par un meilleur management.
- Le redynamisation du mouvement coopératif pour diminuer le nombre d'intérmédiares.
- La restructuration des industries d'aval pour devenir un centre de pilotage de la filière;
- L'amélioration de l'efficience du système d'information et d'encadrement technique des aviculteurs ;
- La promotion de l'aviculture traditionnelle fermière en zones rurales dans le cadre du développement durable.

CONCLUSION

Le fonctionnement de la filière avicole rencontre actuellement un certain nombre de contraintes qui entravent son développement : Dépendance structurelle pour les matières premières alimentaires (maïs, tourteau de soja, additifs) et les divers facteurs de production (matériel biologique, produits vétérinaires), absence de coordination entre acteurs de la filière pour une meilleure maîtrise des flux, faible productivité des facteurs utilisées dans les entreprises avicoles, difficulté d'assurer un approvisionnement régulier des centres urbains en produits avicoles à prix stable.

Actuellement, compte tenu du rôle important joué par la filière avicole et de la demande toujours croissante des consommateurs, il apparaît nécessaire d'élaborer des stratégies appropriées, dans le cadre de l'interprofession, en vue de renforcer la compétitivité de la filière.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdellah Khodja S., 2021. Etude technico – économique de quelques élevages de poulet de chair dans la région de Annaba Mémoire de Master, ENSA El Harrach, 2021.

Anonyme. 2020. Analyse rapide de l'impact socio-économique du Covid-19 sur l'Algérie. Alger, ONU.

Boudina H., 2021. Aviculture**:** Près de 1,5 million de poules reproductrices décimées par la grippe aviaire. Directeur général de l'Office National des Aliments du Bétails (ONAB).Algérie Presse Services (APS), publié en septembre 2021.

- CNIS, 2021. Statistiques du Commerce Extérieur de l'Algérie. Services des douanes, Centre National de l'Informatique et des Statistiques **(**CNIS**)**, 2021.

CNRC., 2020. Traitement statistique du fichier du CNRC relatif aux inscriptions au registre du commerce. Situation en 2019.

Jez C., Beaumont C., Magdelaine P. et Paillard S, (2009). La filière avicole française à l'horizon 2025. Rapport du groupe de travail Prospective avicole, Octobre, Paris.

Kaci A., 2014. Les déterminants de la compétitivité des entreprises avicoles algériennes. Thèse de doctorat en sciences, ENSA d'El Harrach (Alger), 2014.

Madr (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural)., 2021. *Statistiques agricoles, séries A et B*. Alger, Algérie.

Temple T, Lançon F, Palpacuer F, Paché G, (2011). Actualisation du concept de filière dans l'agriculture et l'agroalimentaire. *Revue Economies et Sociétés N° 33, Presses de l'ISMEA - Paris, 2011, pp.1785-179.*

Tableau 1. Evolution des performances zootechniques des élevages privés de poulets de chair en Algérie

Paramètres	Avant 2000	2000-2020
Age à l'abattage (Jours)	62-66	47-52
Taux de mortalité (%)	11-28	8-5,88
Gain Moyen Quotidien (Grammes/Jour)	27-35	38-48
Poids Vif (Kg)	1,78-2,3	2,13-2,52
Indice de consommation	2,82-3,50	2,35-2,19
Indice de production	61-109	111-206

Source : Notre élaboration à partir de plusieurs enquêtes de terrain (1987-2018)

Tableau 2. Contribution à l'évaluation de l'impact de la crise sanitaire du COVID-19 : Evaluation de quelques indicateurs économiques des filières avicoles en Algérie

Indicateurs 2019	Unités	2019	2020	Evolution (%)
Population humaine	Habitants	43424000	43900000	1,10
Disponibilités viandes dinde	Kg/Hab/An	1,53	1,18	-23
Disponibilités viandes poulet de chair	Kg/Hab/An	12,7	12,2	-3,5
Disponibilité Œufs de consommation	Unités/Hab/An	146	144	-1,4
Production poule de chair	Tonnes	550689	537240	- 2,4
Production œuf de consommation	Unités	63555740000	6335429000	-0,3
Prix de détail poulet de chair	DA/Kg poulet évidé	291	269	-7,6

Source : Notre élaboration à partir des statistiques du MADR (DSV et DRDPA) de 2021

Evolution des achats des ménages français en viande de volailles Tendances 2017-2020

BOUZIDI Mohamed[1]

[1]*ITAVI - 7 rue du Faubourg-Poissonnière - 75009 Paris,*
bouzidi@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

La consommation individuelle de viande en France ne cesse de décroître depuis 30 ans. Si les viandes de boucherie ont connu un déclin dans leur consommation, celle de viande de volailles a, a contrario, connu une croissance dynamique et ininterrompue depuis 20 ans. Parmi ces dernières, la consommation à domicile des viandes fraiches brutes s'érode néanmoins ces dernières années. Ce déclin de la consommation à domicile ne suit pas la même trajectoire pour toutes les catégories de volailles. Cet article dresse un panorama des tendances de la consommation de volailles à domicile entre 2017 et 2020 pour comprendre la dynamique de cette évolution, tout en abordant la crise sanitaire de Covid-19 et son effet sur la consommation à domicile en 2020.
Ce travail mobilise les données du Panel Kantar entre 2017 et 2020. L'analyse portera sur l'évolution des achats des ménages en volume par type de produit, profil de consommateurs, fréquences d'achat et par circuit de commercialisation.
Entre 2017 et 2019, avant la crise de la covid-19, la consommation à domicile de viande de volailles a reculé de 0,3 %. Malgré ce recul, certains produits ont gardé une dynamique positive à l'image des découpes de poulet ou des élaborés.
Les restrictions imposées en lien avec la pandémie, notamment dans le secteur de la restauration, ont stimulé les achats de viandes de volailles à domicile (+ 9,3 % en 2020). Cette croissance reste contrastée par produit, avec une accélération de la tendance pour les découpes de poulet et les élaborés qui gagnent de plus en plus de parts de marchés en raison de leur praticité et leur prix par rapport à d'autres produits. Cela est particulièrement illustré par les évolutions constatées auprès des foyers ayant des revenus modestes et moyens-inferieurs, qui achètent de plus en plus de volailles.

ABSTRACT

Evolution of household purchases of poultry meat in France : 2017-2020 trend

Individual meat consumption in France has been steadily decreasing for 30 years. While red meat consumption has declined, the consumption of poultry meat has increased over the last 20 years. Nevertheless home consumption of raw fresh poultry meats has been eroding in recent years. Every category of poultry do not follow this decline in home consumption.
This article provides an overview of trends in home poultry consumption between 2017 and 2020 to try to understand the dynamics of this development, while addressing the Covid crisis and its effect on home consumption. This study mobilizes data from the Kantar Panel between 2017 and 2020. The analysis will focus on changes in household purchases in volume and value by type of product, purchase frequencies, buyer profile analysis and trend by channel of sales.
Between 2017 and 2019, before the covid-19 crisis, home consumption of poultry meat fell by 0.3 %. Despite this decline, some products have maintained a positive dynamic, such as chicken cuts or processed meats, which remain essential products for French households.
The restrictions imposed in response to the pandemic spread, particularly in the Horeca sector, stimulated purchases of poultry meat for home consumption (+ 9.3 % in 2020). This growth still differs between products, with an acceleration in the purchassing trend for chicken cuts and processed products, which are gaining more and more market shares due to their convenience and price compared to other products. This is illustrated by the changes observed among households with modest incomes, who buy more and more poultry.

INTRODUCTION

Selon l'enquête IFOP pour France Agrimer réalisée en 2020 sur les végétariens et flexitariens en France, seuls 2,2 % des français suivent un régime alimentaire sans viande et 24 % se déclarent flexitariens. Malgré cette part marginale de non consommateurs de viande, la consommation de viande en France ne cesse de décroître. Si la viande de boucherie a connu un déclin de consommation (- 0,4 %/an) ces dix dernières années selon Agreste, la consommation par bilan de viande de volailles a, au contraire, connu une croissance dynamique et ininterrompue sur dix ans (+ 2,0 %/an). La viande de poulet reste le moteur de cette croissance avec + 3,5 %/an. En revanche, cette tendance s'inverse pour la consommation de poulet à domicile qui s'érode ces dernières années. Les achats de certaines catégories de produits de volailles (poulet, dinde, découpes, préparations…) ne suivent pas la même tendance et restent étroitement liés au profil de l'acheteur, en particulier de son âge, du niveau de ses revenus, de la composition du foyer et dépendent aussi du circuit d'achat.

La crise sanitaire engendrée par la Covid-19 et les restrictions qui ont touché le secteur de la restauration ont stimulé les achats de viandes de volailles (+ 9,3 % en 2020). Cette croissance reste contrastée par produit, par type d'acheteur et par circuit d'achat.

Cet article mobilise les données du panel Kantar sur les achats des ménages, des données Agreste sur la consommation pour analyser l'évolution de la consommation de volailles à domicile. La période d'analyse s'étale principalement entre 2017 et 2020 avec quelques rappels des tendances sur le long terme. L'analyse des données Kantar porte principalement sur la consommation à domicile par type de produits, par profil de consommateur (niveau de revenus, âge, type de foyer…) et par circuit de commercialisation. Une analyse particulière sera consacrée à l'année 2020 qui a connu des changements tendanciels en lien avec la crise sanitaire.

1. MATERIELS ET METHODES

Ce travail repose sur l'analyse du Panel Kantar pour les achats des ménages pour leur consommation à domicile. La période couverte par cette étude s'étale entre 2017 (année de rupture de la série Kantar) et 2020 (année de la crise sanitaire). Le panel Kantar repose sur un échantillon de panelistes représentatifs de la population française (âge, situation socioprofessionnelle, composition de foyer et revenus). L'échantillon est réparti sur le territoire national et couvre les différents circuits d'achats (GMS, circuits spécialisés, en ligne, marchés…). Bien que le Panel couvre une large gamme de produits en volaille de chair, l'analyse se limitera aux principaux produits achetés, à savoir, le poulet, la dinde, le canard, la pintade et les élaborés. Donc hors produits surgelés, lapin et abats.

Au-delà de la période étudiée, des analyses sur les évolutions à long termes seront abordées afin de rappeler les grandes tendances depuis les années 2000.
En outre, des analyses comparatives entre la consommation à domicile et hors domicile s'impose, afin de dresser un bilan général de la consommation de volailles et la place de la consommation à domicile.

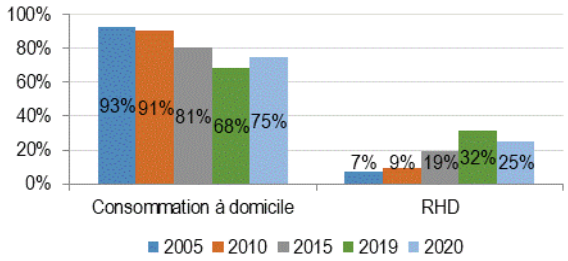
La consommation globale des viandes de volailles est calculée par bilan en mobilisant les données Agreste pour la production et la variation des stocks ainsi que les données de douanes pour les échanges extérieurs en viande de volailles.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Tendance de la consommation de volaille à domicile

En 2020, 98,2 % des français ont acheté de la viande de volailles au moins deux fois par mois. Historiquement, le taux de foyers français acheteurs de volaille de chair est relativement stable autour 98 %. Si la majorité des Français achètent de la viande de volaille, les préférences et la fréquence d'achat pour chaque produit diffèrent : le poulet et les élaborés restent les produits incontournables de la liste des achats des ménages avec un taux de pénétration de respectivement 89,9 % et 90,6 %.

Figure 1 : Évolution de la consommation de viande de volaille par circuit entre 2005 et 2020



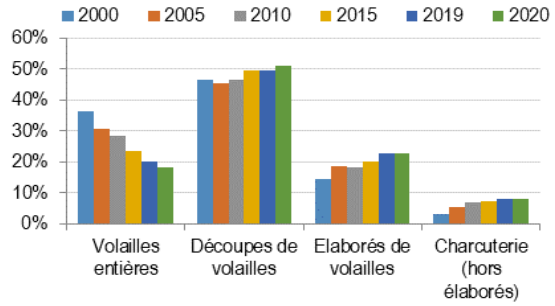
Source : Itavi d'après Kantar, Agreste

En termes de fréquence d'achat, la même tendance est constatée avec des achats au moins une fois par mois pour chacun des deux produits largement consommés.
Selon les analyses de l'Itavi et au regard de la consommation totale en viande de volailles, la consommation à domicile a connu une baisse continue depuis 2012 au profit de la consommation hors domicile. En 2019, la consommation de volailles en RHD pesait près d'un tiers de la consommation totale. En 2020, le poids de la RHD recule à 25 % en lien avec les mesures de fermeture des restaurants et cantines. Cette baisse de la consommation hors domicile s'est accompagnée d'une accélération du développement de la livraison des repas à domicile. Selon Food Service Vision, le marché de la livraison

des repas en 2020 a progressé de 47 % sur 2 ans, pour atteindre un chiffre d'affaire de 4,9 milliards dans le secteur de la restaurant.

L'année 2020, en revanche, a connu un inversement des tendances suite à la fermeture du secteur de la restauration hors domicile (RHD) pour endiguer la propagation de la pandémie. Une partie de la consommation en RHD a été reportée sur les achats pour la consommation à domicile. Ainsi, la part de la consommation à domicile a bondi à 75 %, se retrouvant au même niveau que l'année 2017.
En termes de volume d'achat, sur la période 2017-2019 (hors période Covid-19), les achats des ménages en viande de volaille et élaborés ont reculé de 0,3 %, cela malgré la hausse (+1,7 %) du budget moyen alloué aux achats de volailles par an (165 € en 2019 contre 162 € en 2017). Seuls deux produits ont contribué à la hausse du budget des ménages entre 2017 et 2019, les élaborés (+ 5,6 %) et le poulet découpé (+ 4,3 %). Cette tendance corrobore la tendance de consommation enregistrée depuis les années 2000 (Hercule, 2018). En effet, le changement d'habitudes de consommation vers plus de praticité dans la préparation des produits et moins de temps de cuisson a permis à certains produits de progresser d'une manière dynamique et continue (poulet découpé et élaborés) alors que d'autres affichent une baisse constante (poulet entier, dinde, pintade…).

Figure 2 : Évolution de la structure des achats des ménages en volailles fraîches, élaborés et charcuteries depuis 2000



Source : Itavi d'après Kantar pour FranceAgrimer

Si on s'intéresse de près à l'évolution des achats par catégorie de produits, les achats en poulet affichent une légère baisse (- 0,7 %) sur la période 2017-2019, tirés à la baisse par les achats de poulet entier (- 12,1 %), compensés partiellement par la hausse des achats en découpe (+ 5,0 %). En dinde et en pintade la baisse est de, respectivement 8,3 % et 12,8 %, confirmant la tendance de déconsommation entamée depuis les années 2000. En canard, la tendance des achats est plutôt à la hausse (+ 2,4 %). Cela s'explique par le retour progressif des achats de magret de canard (+ 21,7 %) après deux années difficiles liées aux deux épisodes de grippe aviaire de 2016/2017, mais le niveau des achats reste en dessous des niveaux de 2015. Quant aux élaborés de volaille, les achats enregistrent une progression dynamique (+ 5,6 %) entre 2017 et 2019, ce segment ne cesse de progresser et attire davantage de consommateurs grâce à sa praticité et rapidité.
Cette tendance de hausse en élaborés, en charcuterie et en découpe s'est accompagnée d'une baisse continue des achats en volailles entières. Ainsi, la part des volailles entières a été divisée par 2 sur les 20 dernières années.

2.2. Le Covid-19 stimule la consommation à domicile

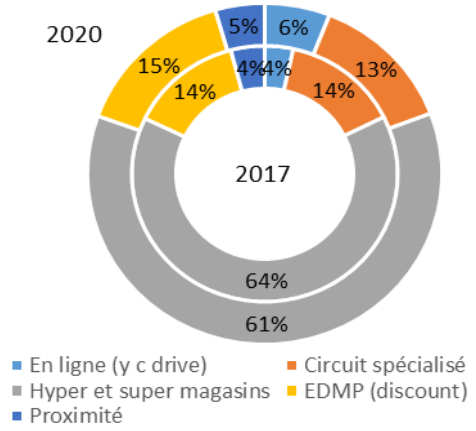
En 2020, suite à la pandémie Covid-19 et aux restrictions sanitaires mises en place pour endiguer la propagation du virus, en l'occurrence la fermeture des restaurants et des cantines, la consommation à domicile a connu un rebond qui a été observé sur la majorité des produits carnés au sens large et particulièrement en volaille de chair, d'où notre choix de traiter les évolutions observées en 2020 séparément par rapport aux années précédentes.
Si les achats des ménages en viande de volailles ont progressé de 9,6 %, les produits achetés n'ont pas suivi la même tendance. En poulet entier, les achats ont progressé de seulement 1,7 %, alors qu'en découpes de poulet, le rebond observé est de 17,4 %.

2.3. Développement des circuits de commercialisation

Historiquement deux tiers des achats des ménages se font en magasins de type hyper et supermarchés. Nous observons entre 2017 et 2020 un recul du poids de ce circuit ainsi que du circuit spécialisé. En revanche, le circuit des achats en ligne et les enseignes à dominante marques propres (EDMP) ont connu une progression dynamique, passant de, respectivement, 3 % et 14 % parts de marché en 2017 à 6 % et 15% en 2020. Cette tendance est d'abord en lien avec la pandémie qui a fortement stimulé les achats en ligne et en drive mais aussi la crise économique qui a orienté des acheteurs vers le circuit hard discount où le prix moyen est relativement moins élevé.
Au niveau de la fréquence d'achat par circuit, entre 2017 et 2020 la fréquence d'achat des ménages en viandes de volailles a progressé de 4,3 % tous circuits confondus, mais ces derniers n'en ont pas profité de la même manière. Si les hypers-supermarchés et EDMP ont enregistré une baisse de - 1,3 % et - 3,7 %, le circuit proximité a connu une progression au même titre que les achats en ligne.

Si le nombre d'acheteurs par circuit est resté stable entre 2017 et 2019, en 2020, le circuit en ligne a réussi à attirer 2,3 millions de nouveaux acheteurs, suivi par le circuit EDMP (discount) qui a capté un million d'acheteurs supplémentaires.

Figure 3 : Évolution des parts des achats des ménages de viandes de volailles par circuit



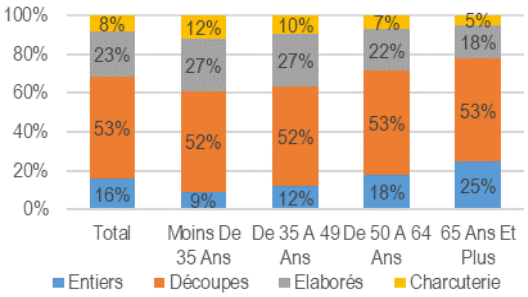
Source : Itavi d'après Kantar pour FranceAgrimer

En effet, la crise sanitaire et les restrictions liées aux déplacements ont contraint certains ménages à réaliser leurs achats en ligne (drive et livraison) et dans les magasins de proximité.
La viande de volailles reste majoritairement achetée en circuit hypers-supermarchés (61 %), cette part passe même à 68 % en canard. En revanche, la pintade fait exception : 37 % des achats sont réalisés dans les magasins spécialisés.

2.4. Profil des consommateurs de volaille

La tendance d'évolution des achats de viande de volailles varie en fonction de l'âge des consommateurs et la composition des foyers. Ainsi, le poids de la volaille entière dans le total des achats ne représente que 16 % en 2020 contre 22 % en 2017. Par âge, les volailles entières restent moins populaires au sein des profils de moins de 35 ans avec des achats qui représentent 9 %, en recul de 4 points par rapport à 2017 profitant aux achats de découpes et d'élaborés. Chez les plus de 65 ans les volailles entières contribuent plus fortement (25 %) mais suivent la même tendance à la baisse.
En 2020, pour toutes les catégories d'âge, les découpes représentent de 52 à 53% des achats. En revanche, les élaborés et la charcuterie de volailles sont relativement plus consommés chez les moins de 35 ans, avec 39 % des quantités achetées. Cette proportion baisse pour les consommateurs les plus âgés (+ 65 ans) où ces achats représentent seulement 22 %.
Par espèce, l'effet générationnel est plus accentué, avec une préférence pour certaines espèces par rapport à d'autres. Par exemple, les moins de 35 ans consomment seulement 3 % des volumes de pintade contre 19 % des découpes de poulet ou 21 % des élaborés de volailles. A l'inverse, les plus de 65 ans consomment 51 % des volumes de pintade, contre 15 % des élaborés de volailles, produits moins populaires auprès des séniors. Cette tendance de surconsommation de certains produits par catégorie d'âge est liée principalement aux habitudes alimentaires, mais aussi au prix moyen de chaque produit, à la praticité de préparation et au de temps de cuisson mais surtout au pouvoir d'achat. Généralement les seniors ont un pouvoir d'achat plus élevé.

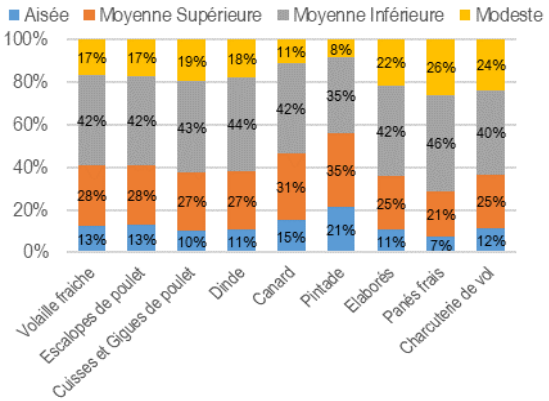
Figure 4 : Part de consommation à domicile de volailles et élaborés par classe d'âge et type de produit en 2020



Source : Itavi d'après Kantar pour FranceAgrimer

A titre de comparaison, les prix du canard et de la pintade restent 77 % et 32 % plus élevés que le poulet, ce qui dissuade les plus jeunes et les ménages à revenus modestes d'en consommer. A cela s'ajoute l'effet circuit, où l'on constate que les magasins spécialisés, notamment les boucheries et volaillers, sont moins fréquentés par les plus jeunes.
Entre 2017 et 2020, ce sont notamment les foyers avec des enfants scolarisés qui ont contribué le plus à la hausse des achats de viandes de volailles, l'évolution concerne principalement, les découpes de poulet (+ 20 %) et les élaborés (+ 30). La fermeture des cantines scolaires a en effet stimulé ces achats.

Figure 5. Répartition des achats des ménages de produits de volaille par classe de revenus en 2020

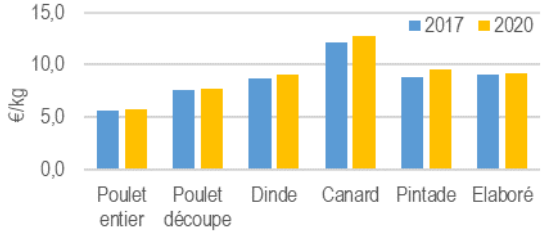


Source : Itavi d'après Kantar pour FranceAgrimer

L'analyse de la composition des achats par classe de revenus des ménages en 2020 (figure 5), montre que les classes modestes et moyennes inférieures restent les plus gros acheteurs en élaborés de volailles (64 %) contre 59 % en volaille fraîche. Ce sont notamment les panés frais qui ont du succès auprès de ces classes

avec 71 % des achats. La praticité de préparation et l'engouement des jeunes générations par ce type de produits a été mis en évidence par Deman pour l'année 2015 (Deman, 2016). Outre les élaborés, les cuisses et les gigues présentent aussi une forte demande de la part des classes moyennes inférieures et modestes avec 63 % des achats effectués. En effet, le prix moyen des cuisses et gigues de poulet est inférieur à celui des escalopes, ce qui favorise les achats de cette classe au pouvoir d'achat limité

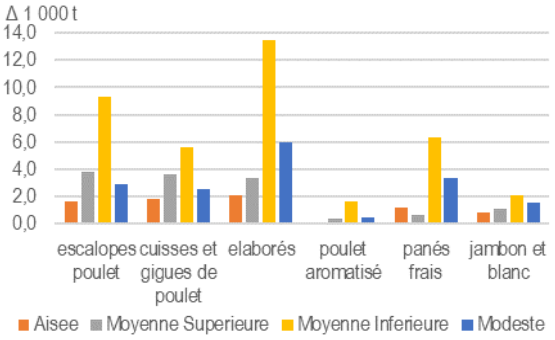
Figure 6. Evolution des prix d'achat unitaires par produit entre 2017 et 2020



Source : Itavi d'après Kantar pour FranceAgrimer

Sur 4 ans, l'évolution des achats en volaille est portée principalement par les foyers à revenus modestes et inférieurs. Si on détaille cette évolution par catégorie de produits, ce sont les élaborés de volaille et les filets de poulet qui ont connu une forte hausse des achats. Parmi les élaborés, les panés frais restent le moteur de croissance notamment en 2020 auprès des catégories les moins aisées.

Figure 7. Évolution des volumes des achats des ménages en produits de volaille par classe de revenus entre 2017 et 2020 (1 000 tonnes)



Source : Itavi d'après Kantar pour FranceAgrimer

Il convient de rappeler que l'effet circuit pourrait influencer la dynamique des achats. On peut citer les élaborés qui sont majoritairement achetés sur le circuit généraliste (92,4 % en 2020), une part plutôt constante dans le temps. Les consommateurs ont tendance à être tentés par l'achat des élaborés pratiques et simples à préparer, contrairement au circuit spécialisé où le choix est plutôt restreint et les produits haut de gamme sont mis en avant (produits sous signe de qualité).

CONCLUSION

Les élaborés et les charcuteries de volailles continuent d'être de plus en plus présents dans les assiettes des français. Avec les découpes de poulet, ils restent les seuls leviers qui maintiennent la consommation à domicile.

Durant la crise Covid-19 de 2020, les restrictions de déplacements et le risque d'une crise économique avec la généralisation du chômage partiel ont pesé sur le choix des ménages en matière d'achats, notamment ceux aux revenus modestes. Cela est visible sur les produits largement consommés hors domicile, notamment pour les enfants scolarisés, mais cela est aussi visible sur la tendance des achats par circuit de commercialisation. Si les parts des circuits dans les achats sont plutôt stables dans le temps, en 2020 les poids des circuits ont connu une évolution contrastée. Les circuits hypers-supermarchés et spécialisés ont connu un recul de fréquentation pendant les périodes de confinement au profit des magasins de proximité et des EDMP.

En termes de composition de foyer, les élaborés gardent une bonne image auprès des familles avec enfants d'âge moyen et adolescents, tandis que les volailles entières, malgré le recul de leur consommation ces dernières années, maintiennent leur attrait auprès des couples seniors et des familles nombreuses.

Les viandes de pintade et de canard restent moins populaires auprès des jeunes mais aussi auprès des foyers à revenu modeste et inférieur, en lien avec leur prix moyen qui est relativement élevé.

Si l'année 2020 a freiné certaines tendances, notamment, en provoquant un soutien de l'achat des volailles entières, l'année 2021, les premiers chiffres du Panel Kantar sur 11 mois, révèlent un retour progressif à la tendance avant Covid où seuls les élaborés et les découpes de poulet tirent les achats à la hausse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Deman, 2016, La consommation française de volailles à domicile en 2015, Vers un changement des habitudes alimentaires. TeMa n°39.

FranceAgriMer, 2021, Végétariens et flexitariens en France en 2020, Enquête IFOP pour FranceAgriMer Rapport d'étude

Food Service Vision, 2021, « Avec 47 % de croissance en 2 ans, la livraison révolutionne le modèle des restaurateurs » consulté sur : https://www.snacking.fr/actualites/tendances/5437-Avec-47-de-croissance-en-2-ans-la-livraison-revolutionne-le-modele-des-restaurateurs/

Hercule, 2018, Achats des ménages en viande de volaille, Tendances de consommation 2014-2017. TeMa n°46

TEMPS DE TRAVAIL EN ÉLEVAGES DE POULES PONDEUSES PLEIN AIR : RÉSULTATS D'UNE ENQUÊTE RÉALISÉE AUPRÈS DES ÉLEVEURS BRETONS

Auteurs : Ruch Marion et Le Quilliec Jeanne

Chambre Régionale d'Agriculture de Bretagne, Rond-point Maurice Le Lannou ZAC Atalante-Champeaux 35000 Rennes

Marion.ruch@bretagne.chambagri.fr

RÉSUMÉ : Le temps de travail est une donnée clef pour une bonne gestion de l'élevage et une bonne qualité de vie au travail. Cette enquête a été réalisée auprès de 26 exploitations de poules pondeuses plein air. Les caractéristiques de l'exploitation, des bâtiments d'élevage et des équipements avicoles ont été recueillis en parallèle des temps de travail. Ceux-ci étaient détaillés tâche par tâche en distinguant ce qui était réalisé par les intervenants extérieurs et par la cellule de base (main d'œuvre permanente de l'exploitation). Les données ont été analysées sous R. Le temps de travail quotidien, regroupant la surveillance des animaux, le tri des œufs et les tâches administratives et sanitaires quotidiennes, est réalisé par la cellule de base uniquement. Il varie en fonction de la taille de l'élevage, en effet, celui-ci diminue lorsque le nombre de poules sur l'exploitation augmente. Les exploitations de moins de 12000 poules comptent en moyenne 186H11 de travail quotidien pour 1000 poules sur un lot entier et celles de plus de 24000 poules, 52H49. D'autres facteurs font varier statistiquement le temps de travail : le mode d'élevage des poulettes, la présence d'alvéoleuse et le nombre de passages de l'éleveur dans le bâtiment. Aucun facteur de variation ne s'est révélé statistiquement impactant sur les temps de travail liés aux pics d'activité (arrivée des animaux, enlèvements, nettoyage et préparation du bâtiment) et aux travaux ponctuels (interventions sanitaires, pesée des animaux, travaux d'entretien du bâtiment et du parcours, rendez-vous professionnels et tâches administratives). En totalité, la cellule de base effectue environ 219H pour les élevages de moins de 12000 poules, 160H pour ceux compris entre 12000 et 18000 poules, 107H pour ceux compris entre 18000 et 24000 poules et 86H pour les élevages de plus de 24000 poules. Cette étude a permis une mise à jour des références sur le temps de travail en élevage de poules pondeuses plein air. Globalement on note une diminution de temps de travail importante par rapport aux dernières références.

ABSTRACT : Working time in free-range laying hen farms

The working time is an important parameter for a good farm management and good working conditions. Twenty-six free-range laying hen farms took part of this survey. The features of the livestock buildings, the barn equipments and the labour have been collected at the same time than the working time. The working time is detailed task by task and the work done by the permanent labour is differentiated from what is done by the temporary workers. The data have been analysed with the R software. The daily working time includes the animal care, the sorting of the eggs, the daily administrative tasks and the daily cleaning. This work is done exclusively by the permanent labour. It differs in accordance with the size of the farm. Indeed, the daily working time decreases as the number of hens increases. The farms with less than 12000 hens have an average daily working time of 186 hours and 11 minutes for 1000 hens between two consignments of animals and the farms with more than 24000 hens have an average daily working time of 52 hours and 49 minutes. Several other factors impact the daily working time: the origin of the ready-to-lay pullets, the presence of the Farmpacker and the number of daily visits of the breeder in the farm buildings. No determining factor impact busy working seasons (arrival of the animals, departure of the animals, cleaning and groundwork for the arrival of the hens) and ad hoc tasks (animals weighing, health interventions, maintenance tasks…). The permanent labour executes 219 hours for the farms of less than 12000 hens, 160 hours for farms counting between 12000 and 18000 hens, 107 hours for those between 18000 and 24000 hens and 86 hours for the farms of more than 24000 hens. These study has enabled an update of the working time references in the free-range laying hen farms.

INTRODUCTION

Les dernières références temps de travail en filière poules pondeuses datent de 2010. Or depuis 10 ans, les systèmes de production ont beaucoup évolué, en réponse à la demande croissante du marché en œufs de systèmes alternatifs. Avoir des références de temps de travail objectives et appuyées sur un échantillon représentatif des exploitations est essentiel pour :

- Permettre aux porteurs de projet de bien dimensionner leurs projets et la main d'œuvre disponible nécessaire.
- Permettre aux exploitants de diagnostiquer d'éventuels facteurs de perte de temps et de trouver des solutions pour améliorer la gestion de leurs exploitations.

Cette étude propose des références actualisées de temps de travail basée sur un échantillon de 26 élevages de poules pondeuses élevées en plein air.

1 MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'enquête a été réalisée sous forme d'un entretien auprès des aviculteurs bretons. Une liste de tâches détaillées, affinée grâce à quelques entretiens préalables, permet de calculer le temps de travail de manière exhaustive. Les temps de travail recueillis concernent deux types de travailleurs :

- la cellule de base composée de l'éleveur interrogé, de son/ses associé(es), de son/ses salarié(es)
- les intervenants extérieurs pouvant avoir différents statuts : prestataires, bénévoles, salariés temporaires,…

La main d'œuvre familiale travaillant ponctuellement pour l'élevage a été assimilée à la cellule de base. Elle intervenait la plupart du temps sur des travaux ponctuels qui requéraient certaines compétences ou appétences spécifiques (conduite de tracteur, comptabilité…). Dans ce type de situation, si la main d'œuvre familiale n'effectuait pas ces tâches, elles n'auraient pas été déléguées pour autant. A contrario, la main d'œuvre familiale, souvent en nombre conséquent, intervenant lors des pics de travail (déchargement des poulettes, démontage / remontage du matériel…) a été dénombré dans les intervenants extérieurs. Ces tâches auraient certainement été déléguées à d'autres personnes en cas d'indisponibilité de la main d'œuvre.

En parallèle à ce questionnaire sur le temps de travail, un entretien avec l'éleveur permettait de recueillir différents facteurs et pratiques qui peuvent, à priori, impacter le temps de travail. Ces facteurs sont de trois sortes :

- **Les pratiques de l'éleveur :** nombre de visites dans le bâtiment, couchage des poulettes, organisation des chantiers, gestion des effluents…
- **L'équipement et le bâtiment :** système volière ou non, automatisation de certaines tâches, équipement à disposition, disposition des équipements dans le bâtiment…
- **Des facteurs externes :** l'élevage des poulettes, l'arborisation des parcours…

Les résultats de l'enquête sont analysés via le logiciel R. Des tests de régressions linéaires ou de Khi-2 ont été effectués pour évaluer l'impact des facteurs de variation sur le temps de travail avec un seuil de significativité statistique de 0,05. L'unité d'expression des temps de travail est en minutes pour 1000 poules ou heures pour 1000 poules.

2 CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉCHANTILLON

Les élevages enquêtés sont localisés dans les départements du Morbihan (14 exploitations) et des Côtes d'Armor (12 exploitations). Les deux seuls critères de recrutement des élevages étaient de sélectionner des élevages de poules plein air, quel que soit leur label qualité, et une commercialisation des œufs en circuit-long. Le recrutement des éleveurs s'est effectué par démarchage téléphonique à partir d'une base de données des chambres d'agriculture de Bretagne.

L'échantillon comporte donc des exploitations très diversifiées en termes d'effectif de poules, de nombre de bâtiments et de label qualité. Sept exploitations ont au moins un autre atelier de production animale (viande bovine, vaches laitières, chevaux de trait, autres volailles, porcs…). Les collectifs de travail sont de compositions différentes d'un élevage à l'autre (salariat ou non, association ou non…) bien qu'aucun élevage ne dispose d'un grand collectif de travail (maximum 2 UTH). La structure des bâtiments et les équipements marquent aussi une grande diversité, ainsi que l'arborisation de parcours.

Bien qu'aucune sélection n'ait été faite sur la structure d'élevage, seuls deux exploitations présentaient une structure type volière, tandis que tous les autres étaient disposés sur un système type caillebotis central. Il n'a donc pas pu être établi un lien entre temps de travail et structure d'élevage.

3 RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Temps de travail quotidien

➔ Caractéristiques du travail

Le temps de travail quotidien est ce qui ne peut être différé dans le temps. Ce sont toutes les tâches qui sont effectuées lors des étapes de montée de ponte, de ponte et de fin de ponte. Statistiquement, il n'y a pas de différences de temps de travail entre ces trois grandes phases. Le temps de travail exprimé sera donc une moyenne sur toute la durée de présence des poules.

Les tâches concernées par le temps de travail quotidien sont les suivantes :

- **La surveillance des animaux :** passages d'observation dans le bâtiment, ramassage des mortes, contrôle des consommations d'eau et d'aliment, passage sur le parcours pour rentrer les poules le soir, couchage des poulettes en début de lot…

- **Le ramassage et le tri des œufs :** ramassages des œufs pondus au sol, tri et mise en alvéoles des œufs, gestion des convoyeurs à œufs,…
- **Suivi technique du lot :** visites du technicien, du vétérinaire, enregistrements sur la feuille d'élevage, suivi des indicateurs techniques (courbe de pontes, consommations, mortalité…),…
- **Les tâches administratives non différables :** accueil des livraisons, commandes, appels téléphoniques, tri et archivage des documents, les réunions d'équipe (salariés et/ou associés)...
- **Les tâches sanitaires quotidiennes ou hebdomadaires :** gestion du tapis à fientes, raclage des fientes, balayage et nettoyage du sas et de la salle de stockage, nettoyage des machines à œufs…

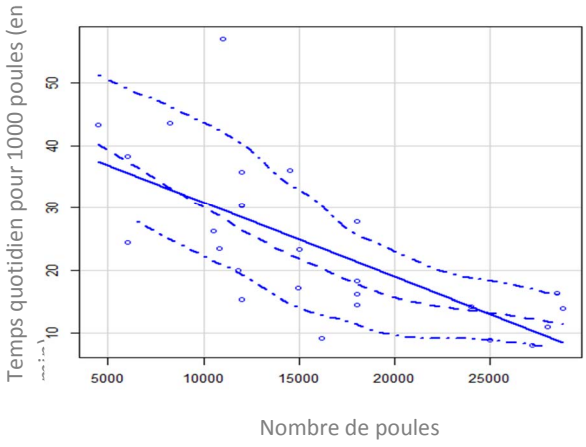
Sur ces temps quotidien, seule la cellule de base est sollicitée, il n'y a pas d'intervention de personnel extérieur. Les tâches quotidiennes sont réalisées tous les jours, y compris le week-end. Certains éleveurs ont indiqué passer moins de temps le week-end sur les tâches quotidiennes, mais les données récoltées dans ce cas précis sont trop peu nombreuses pour réaliser une analyse de la variabilité entre les jours de la semaine.

➔ Les temps moyens quotidiens

Le travail quotidien représente pour la cellule de base en moyenne environ 5 heures et 20 minutes par jour, soit 24 minutes pour 1000 poules.

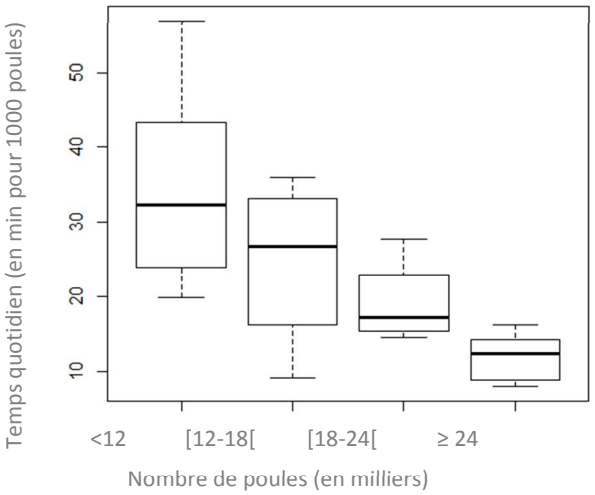
Cependant, ce résultat est à nuancer en fonction du nombre de poules dans l'élevage. En effet, c'est l'un des facteurs de variation prépondérant, qui se justifie statistiquement par une régression linéaire (Figure 1) : Le temps de travail quotidien pour 1000 poules diminue lorsque le nombre de poules sur l'exploitation augmente.

Figure 1 : Le temps de travail quotidien pour 1000 poules diminue lorsque l'effectif de poules sur l'exploitation augmente



Une expression du temps de travail quotidien en fonction de différentes tranches de taille d'exploitation parait donc plus pertinente. Pour ce faire, quatre groupes de taille d'exploitation ont été créés (Figure 2) et il a été vérifié que le temps de travail quotidien entre ces groupes restait statistiquement différent ($p \leq 0,05$).

Figure 2 : Temps de travail quotidien pour 1000 poules réparti en quatre groupes de taille d'élevage



Les moyennes de temps de travail quotidien de la cellule de base sont notées dans le Tableau 1. Pour le calcul des références, il est tout indiqué de prendre la valeur pour 1000 poules en fonction de la taille d'élevage.

Tableau 1 : Temps de travail quotidien de la cellule de base en fonction de la taille d'élevage

Nombre en milliers de poules	**<12**	**[12-18[**	**[18-24[**	**>24**
Nombre élevages	8	8	4	6
Temps quotidien (h / jour)	4H50	5H28	5H46	5H26
Temps pour 1000 p (min)	35	25	19	12
Total sur le lot(h)	1605 H	1687 H	1328 H	1426 H
Temps sur le lot pour 1000 p (h)	186H11	127H43	73H46	52H49

➔ Les autres facteurs de variation

Plusieurs facteurs de variation ont été testés en fonction d'hypothèses préalablement établis. Quatre d'entre eux ont un impact significatif sur le temps de travail quotidien de la cellule de base (Tableau 2) : Le nombre de passages de l'éleveur dans le bâtiment au cours du lot, la structure dans laquelle ont été élevées les poulettes, la présence d'une alvéoleuse sur l'exploitation et également d'une empileuse. L'empileuse étant toujours combinée à une alvéoleuse et sachant que seulement deux élevages de notre échantillon possèdent une alvéoleuse sans empileuse, ce dernier facteur a été mis de côté car semblait peu pertinent.

Tableau 2 : Impact des facteurs de variation sur le temps de travail quotidien de la cellule de base (* = non significatifs)

	Nb élevages	Temps quotidien	Temps pour 1000 poules
Totalité de l'échantillon	26	5H19	24 min
Poulettes élevées au sol	21	5H30	27 min
Poulettes sur volière	5	4H34	11 min
Présence d'alvéoleuse	19	5H10*	19 min
Absence d'alvéoleuse	7	5H44*	37 min
Entre 1 et 3 passages	19	4H47	21 min
Plus de 3 passages	7	6H45	33 min

La **provenance des poulettes** impacte de manière significative le temps de travail en montée de ponte **et** en cours de ponte. On peut faire l'hypothèse que les poulettes élevées sur volière facilite l'éducation de la poule en début de lot (moins de temps passé au couchage, à la surveillance, etc.), mais également le travail lors de la ponte avec peut-être moins d'œufs pondus au sol et un ramassage des œufs. Il est à noter qu'une minorité d'éleveurs dans l'échantillon avait accès à ce type de poulettes. Les deux seules structures volière compris dans notre échantillon sont incluses dans les 5 élevages fournis en poulettes élevées sur volière. Cela peut donc également avoir un effet sur le résultat.

L'**utilisation d'une alvéoleuse** dans l'exploitation permet de mécaniser une partie du ramassage des œufs. La diminution du temps de travail avec ce type d'équipement est assez intuitive. Au-delà du gain en temps de travail, cela permet également d'améliorer le confort de travail et la pénibilité en limitant en supprimant une manipulation répétitive. Il est important de préciser que tous les élevages dont l'effectif est inférieur à 12000 poules ne possèdent pas d'alvéoleuse. Il est donc nécessaire de se méfier quant à l'interprétation de cette variable.

Le **nombre de passages de l'éleveur** dans les bâtiments dépend de l'âge des volailles (en règle général, il y a un ou plusieurs passages supplémentaires en montée de ponte), mais également des pratiques de l'éleveur. Une majorité d'entre eux font entre 1 et 3 passages quotidiens au cours du lot, mais certains éleveurs peuvent passer jusque 6 ou 7 fois dans leurs bâtiments.

Cela impacte donc beaucoup le temps de travail. Malgré tout, cela peut être un atout pour un bon suivi technique de l'élevage. Les résultats techniques n'ayant pas été pris en compte pour cette étude, il est difficile d'en juger.

La différence de mode de production (sous label de qualité ou non), n'a pas d'impact significatif sur le temps de travail quotidien. C'est pourquoi les données sont présentées conjointement pour tous les systèmes.

3.2 Gestion des pics de travail ou travail de saison

➔ Caractéristiques du travail

Dans de nombreuses études, ce qui est considéré comme travail de saison en aviculture est le travail qui est effectué à des périodes bien particulières en début et fin de lot. Ce sont généralement des périodes très chargées pour les éleveurs de poules pondeuses, considérées comme des pics de travail et dépendantes du rythme des lots.

Les tâches concernées par le travail de saison sont les suivantes :

- L'**arrivée des poulettes**
- Les **desserrages** et l'**enlèvement final**
- Le **nettoyage** et la **désinfection** du bâtiment et du matériel
- La **préparation du bâtiment** à l'arrivée des animaux

Sur ces pics de travail, les intervenants extérieurs sont beaucoup sollicités. D'autant plus que la période sur laquelle se déroulent toutes ces tâches est relativement courte : en moyenne 30 jours, avec un temps de vide sanitaire nécessaire d'une ou deux semaines.

➔ Les temps moyens des travaux de saison

Différents facteurs de variation ont été testés sur les travaux de saison (équipements, automatisation, litière, etc.) et aucun d'entre eux ne s'est révélé statistiquement impactant, y compris le nombre de poules ou le nombre de bâtiments.

Les temps de travail liés aux travaux de saison sont donc calculés sans tenir compte de la taille de l'élevage. Ils sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Temps de travail liés aux travaux de saison pour la cellule de base et pour les intervenants extérieurs

Temps de travail (en h)	Temps cellule de base		Temps total intervenants		Temps total	
	Total	Pour 1000 p	Total	Pour 1000 p	Total	Pour 1000 p
Préparation du bâtiment	41H41	3H39	58H13	4H26	99H53	7H54
Arrivée des poulettes	7H14	0H31	22H27	1H22	29H41	1H53
Enlèvement (préparation incluse)	22H13	1H38	61H53	4H03	84H06	5H33
Nettoyage Désinfection	93H10	7H33	131H44	9H49	224H54	17H22
TOTAL	164H18	13H21	274H17	19H40	438H34	32H42

En moyenne, les travaux de saison en élevage poules pondeuses plein air prennent donc plus de 438H de travail effectif, dont 164H effectué par les associés et salariés de l'exploitation. Ce qui représente 32H41 pour 1000 poules dont 19H40 réalisées par des intervenants extérieurs et 13H01 réalisées par la cellule de base.

Le nombre d'intervenants varie fortement en fonction de la tâche qui leur est confiée : l'arrivée des poulettes et l'enlèvement demandent de grands effectifs d'intervenants extérieurs pour limiter le stress des animaux. Certaines exploitations peuvent solliciter ces mêmes intervenants pour préparer le bâtiment à l'arrivée des poulettes ou bien commencer le nettoyage et la désinfection (notamment concernant les tâches de montage/démontage du matériel), tandis que d'autres préfèrent faire appel à d'autres personnes ou bien réaliser cette tâche seul.

3.3 Les travaux ponctuels

Aux travaux quotidiens et travaux de saison, il faut ajouter les travaux ponctuels qui sont réalisés tout au long du lot en fonction des besoins. Le temps passé sur ces travaux ponctuels est très variable d'un élevage à l'autre.

Les travaux ponctuels sont les suivants :
- **La pesée des animaux**
- **Les travaux d'entretien** du bâtiment et du matériel
- **Les interventions sanitaires**
- **Les rendez-vous professionnels**
- **Les tâches administratives particulières**
- **L'entretien du parcours et des abords des bâtiments**

Le personnel extérieur est rarement sollicité par les éleveurs sur les travaux ponctuels. Il va intervenir sur la gestion du parcours ou bien sur la pesée des volailles par exemple. En moyenne, il reste négligeable et a donc été assimilé au temps de travail de la cellule de base pour les analyses.

Aucun facteur de variation n'a d'impact significatif sur les temps de travaux ponctuel, notamment ces deux couples facteur / variable qui paraissaient les plus pertinents intuitivement : la typologie du parcours sur le temps de gestion de parcours et la présence de pesons automatiques sur le temps de pesée.

En moyenne, les travaux ponctuels prennent 274H22 de travail effectif, soit 19H52 pour 1000 poules.

3.4 Le temps de travail total

Dans le tableau 4 figurent des repères sur le temps de travail total à comptabiliser en fonction de la taille d'élevage pour 1000 poules. Ces références permettent d'estimer la main d'œuvre nécessaire pour un atelier de poules pondeuses plein air.

Si l'on compare ces résultats aux données issues de la littérature et datant de 2010, on remarque une diminution du temps de travail. Un élevage de poules pondeuses biologiques demandait à la cellule de base entre 462H et 306H de travail pour 1000 poules. Cette étude (Pineau, 2010) se basait sur un échantillon composé de 10 élevages de moins de 12000 poules. Dans une autre étude de 2010 (Gallot, 2010), étudiant le temps de travail sur un échantillon plus restreint (8 élevages) et plus diversifié (poules pondeuses plein air, label rouge, agriculture biologique et en cage), le temps de travail réalisé par la cellule de base était en moyenne de 250H par an, soit 275H par lot, pour 1000 poules. Globalement, on note une diminution de temps de travail qui peut s'expliquer par l'évolution des systèmes, des équipements, des bâtiments, de la génétique et de la technicité des éleveurs.

Tableau 4 : Repères temps de travail pour un lot en heures pour 1000 poules en fonction de la taille de l'élevage de poules pondeuses plein air

	Nombre de poules	**< 12000**	**[12000-18000[**	**[18000-19000[**	**≥ 24000**
Temps pour la cellule de base	Travail quotidien	186 H 11	127 H 26	73 H 46	52 H 49
	Travail de saison	13 H 01			
	Travaux ponctuels	19 H 52			
	Temps total lot	219 H 04	160 H 09	106 H 39	85 H 42
	Temps total prestataires	19 H 40			

Références bibliographiques

Gallot S., Delabrosse C., Grimaud P., Morinière F., Pineau C., 2010. Référentiel travail en élevages avicoles, Synthèse de 24 Bilans travail, pp10.
Gallot S., 2009. Le travail en aviculture, synthèse bibliographique, pp19.
Pineau C., Morinière F., Bordeaux C., 2010. Le travail en élevage de poules pondeuses biologiques, pp6.

SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

Communications orales

L'AMELIORATION GENETIQUE DE LA RESILIENCE CHEZ LES POULES PONDEUSES : DES CARACTERES PROMETTEURS

Nicolas Bédère[1], Tom V.L. Berghof[2,3], Katrijn Peeters[4], Marie-Hélène Pinard-van der Laan[5], Jeroen Visscher[4], Ingrid David[6], Han A. Mulder[2]

[1]PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590, Saint Gilles, France
[2]Wageningen University & Research Animal Breeding & Genomics, P.O. Box 338, 6700 AH Wageningen, The Netherlands
[3]Reproductive Biotechnology, TUM School of Life Sciences, Technical University of Munich, Liesel Beckmann Strasse 1, 85354 Freising, Germany
[4]Hendrix Genetics B.V., P.O. Box 114, 5830 AC Boxmeer, The Netherlands
[5]Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350, Jouy-en-Josas, France
[6]GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, INPT, 31326, Castanet Tolosan, France

nicolas.bedere@inrae.fr

RÉSUMÉ

Notre objectif est d'estimer l'héritabilité de trois caractères de résilience chez la poule pondeuse, ainsi que leurs liens génétiques avec la production totale d'œufs. Des poules pondeuses d'une lignée BD (Rhode Island, 34 397 poules pures du nucléus et 3 898 descendantes croisées) et d'une lignée WA (White Leghorn, 33 825 pures et 6 698 croisées) ont été phénotypées. Les pures sont hébergées dans des cages individuelles, alors que les croisées sont dans des cages collectives de demi-sœurs. Les caractères de résilience ont été évalués par l'étude des écarts entre la production hebdomadaire réalisée de 25 à 83 semaines d'âge et la production attendue (moyenne du lot). Trois mesures de résilience sont extraites de ces écarts : le logarithme de leur variance (LNVAR), leur autocorrélation (AUTO-R) et le coefficient d'asymétrie de leur distribution (ASYM). Des modèles multicaractères animaux en lignées pures, et pères pour les croisées ont été utilisés pour estimer les composantes de variance des caractères de résilience et de la production totale d'œufs. Chez les pures, les caractères de résilience présentent des héritabilités faibles (LNVAR : 0,10 et 0,12 ; AUTO-R : 0,06 et 0,08 ; SKEW : 0,04 et 0,02 pour les WA et BD respectivement). En croisées, LNVAR a présenté une héritabilité moyenne (0,13 et 0,18 pour les WA et BD respectivement), alors qu'AUTO-R et SKEW ont présenté des héritabilités faibles ($h^2 < 0,03$). Les corrélations génétiques entre les caractères de résilience, ainsi qu'avec la production totale d'œufs pour LNVAR, sont favorables, en particulier chez les pures. Enfin, les corrélations génétiques des caractères de résilience entre pures et croisées sont différentes de 1,00 (entre 0,16 et 0,63). Le caractère LNVAR, héritable et ne présentant pas de corrélation génétique défavorable avec la production d'œufs, pourrait être considéré en sélection pour améliorer la résilience des poules pondeuses, sous réserve de corrélations génétiques gérables avec les autres fonctions (efficience alimentaire, santé, bien-être, comportement...).

ABSTRACT

Genetic improvement of resilience in laying hens: promising traits

Our objective was to study the genetic background of three resilience indicator traits in laying hens, and their genetic correlations with egg production. Laying hens from the BD line (Rhode Island, 34,397 purebred hens and 3,898 crossbred offspring from a BD sire) and from the WA line (White Leghorn, 33,825 purebreds and 6,698 crossbreds) were phenotyped. Purebreds were housed individually while crossbreds were housed in groups of sire half-sibs. Deviations between weekly egg production and their flock's average were calculated. The resilience indicator traits were the natural logarithm of the variance (LNVAR), the skewness (SKEW) and the lag-one autocorrelation (AUTO-R) of these deviations. Both the genetic parameters of the resilience indicator traits and their relationships with egg production (EP) were quantified by estimating variance components using multivariate analyses. In both purebred lines resilience indicators were lowly heritable (LNVAR: 0.10 and 0.12, SKEW: 0.04 and 0.02, AUTO-R: 0.06 and 0.08 in WA and BD, respectively). In crossbreds, LNVAR displayed moderate heritabilities (h^2 ranged from 0.13 to 0.21), whereas AUTO-R and SKEW were less heritable ($h^2 \leq 0.03$). Resilience indicator traits displayed favorable genetic correlations among themselves and between LNVAR and EP, particularly in purebreds. The genetic correlations between purebreds and crossbreds differed from unity (from 0.16 to 0.63). We conclude that LNVAR could be considered as a selection criterion for genetic improvement of resilience in laying hens, depending on its relationship with other functions (feed efficiency, health, welfare, behaviour...).

INTRODUCTION

Les programmes d'amélioration génétique ont sélectionné des animaux d'élevage très productifs, aux dépends d'autres caractéristiques fonctionnelles (longévité, santé, reproduction... ; Rauw *et al.*, 1998). Ces conflits entre fonctions biologiques sont expliqués par la théorie de l'allocation des ressources : quand plusieurs processus biologiques partagent les mêmes ressources, une compétition pilotée par des caractéristiques génétiques s'installe (Rendel, 1963). Or, face à des ressources naturelles finies et convoitées, et des risques de perturbations accrus (variations de température, émergences de maladies...), les animaux vont devoir aussi faire face à des dépenses supplémentaires avec des apports limités. Il y a donc un intérêt de plus en plus prégnant à sélectionner des animaux résilients, c'est à dire des animaux capables d'être peu affectés par des perturbations, ou de revenir rapidement à leur état d'origine (le phénotype concerné n'est pas nécessairement productif ; Berghof *et al.*, 2019b).

Faute de critère disponible, les programmes de sélection n'intègrent pas à présent l'amélioration de la résilience. La disponibilité récente d'outils de phénotypage à haut-débit permettrait de définir de nouveaux caractères de résilience grâce à une information répétée par animal ou par famille (Scheffer *et al.*, 2018). En effet, les animaux exposés à des perturbations présentent des phénotypes différents de ceux attendus (Friggens *et al.*, 2017). Les caractères de résilience les plus étudiés sont ainsi basés sur les écarts entre le phénotype attendu et observé sur des caractères de production. D'autres approches basées sur des trajectoires adaptatives à plus long terme ou sur des biomarqueurs (*e.g.* immunocompétence) se déve-loppent (Friggens *et al.*, 2017) mais ne sont pas traitées dans cette étude. Les caractères de résilience basés sur les écarts entre le phénotype attendu et observé présentent des héritabilités modestes et des corrélations génétiques désirables avec des caractères de production et de santé chez les bovins, les porcins et les volailles (Berghof *et al.*, 2019a; Putz *et al.*, 2019; Poppe *et al.*, 2020). La littérature existante sur les caractères de résilience chez la poule pondeuse est basée sur des phénotypes épars (poids vif par Berghof *et al.*, 2019a ; poids d'œuf par Wolc *et al.*, 2012 ; ou couleur de la coquille par Mulder *et al.*, 2016). Or, certains phénotypes sont enregistrés quotidiennement, notamment le nombre d'œufs pondus, permettant de calculer des caractères de résilience.

Les objectifs de cette étude sont d'étudier 1/ le déterminisme génétique des caractères de résilience basés sur l'enregistrement quotidien de la ponte, 2/ les relations génétiques entre les caractères de résilience et de production, et 3/ les relations génétiques entre les caractères chez les lignées pures et leur descendants croisés.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Population étudiée

Des enregistrements de ponte issus de poules pondeuses de 2 lignées (BD : Rhode Island et WA : White Leghorn) du schéma de sélection d'Hendrix Genetics ont été utilisés. Ils concernent 34 397 poules BD pures et 3 898 descendantes de père BD croisées avec une mère d'une autre lignée, ainsi que 33 825 WA pures et 6 698 WA croisées. Les pures sont hébergées dans des cages individuelles, alors que les croisées sont dans des cages collectives de demi-sœurs de père. La population est structurée par familles de demi-sœurs de pères avec 50 descendantes par père en pures et 70 descendantes par père en croisées. Le pédigrée de chaque individu phénotypé est connu sur au moins 4 générations.

1.2. Phénotypes

La ponte est relevée plusieurs fois par semaine. A partir de ces relevés, il est possible de calculer la ponte hebdomadaire de chaque individu.
Le caractère de production étudié est le nombre total d'œufs produit entre 25 et 83 semaines d'âge (**NOT**). Cet intervalle de temps représente la période souvent utilisé comme critère de sélection pour améliorer la production d'œufs.
Les caractères de résilience ont été évalués par l'étude des écarts entre la production hebdomadaire réalisée et la production attendue (moyenne du lot, c'est à dire des issues de la même date d'éclosion et élevées dans le même bâtiment ; **Figure 1A**). Trois mesures de résilience sont extraites de ces écarts de ponte (**Figure 1B)** : leur autocorrélation de décalage temporel 1 (*i.e.* décalage d'une semaine entre deux mesures, **AUTO-R** ; **Figure 1C**), le logarithme de leur variance (**LNVAR** ; **Figure 1D**) et le coefficient d'asymétrie de leur distribution (**ASYM** ; **Figure 1D**). Ces caractères sont complémentaires car ils permettent d'étudier plusieurs aspects de la résilience (Berghof *et al.*, 2019b) : plus un animal est sensible aux perturbations et plus 1/ la variance des écarts de ponte augmente, ainsi que LNVAR ; 2/ plus d'écarts négatifs que positifs vont être observés, engendrant un ASYM négatif ; 3/ plus son taux de récupération est lent, plus deux écarts consécutifs seront corrélés et donc plus AUTO-R sera élevé. Ainsi, un animal résilient doit présenter un LNVAR faible, un ASYM proche de zéro (voire positif), et un AUTO-R proche de zéro.

1.3. Traitement statistique

Des modèles bicaractères ont été utilisés pour estimer les composantes de la variance avec les données pures et croisées considérées comme deux caractères :

$$\begin{bmatrix}\mathbf{y}_p\\ \mathbf{y}_c\end{bmatrix} = \begin{bmatrix}\mathbf{X}_p & 0\\ 0 & \mathbf{X}_c\end{bmatrix}\begin{bmatrix}\mathbf{b}_p\\ \mathbf{b}_c\end{bmatrix} + \begin{bmatrix}\mathbf{Z}_p & 0\\ 0 & \mathbf{Z}_c\end{bmatrix}\begin{bmatrix}\mathbf{a}_p\\ \mathbf{s}_c\end{bmatrix} + \begin{bmatrix}\mathbf{e}_p\\ \mathbf{e}_c\end{bmatrix}$$

Où $\mathbf{y}_p$ est le vecteur des valeurs du caractère chez les pures et $\mathbf{y}_c$ celui chez les croisées. Chez les pures, un modèle animal a été employé, incluant comme effets fixes dans la matrice d'incidence $\mathbf{X}_p$: un effet combiné de la date d'éclosion et de la ferme, la batterie et la rangée de la cage, un effet de la durée de vie. La matrice $\mathbf{Z}_p$ est la matrice d'incidence des effets génétiques et $\mathbf{b}_p$, $\mathbf{a}_p$ et $\mathbf{e}_p$ sont les vecteurs des effets fixes, génétiques et résiduels, respectivement. Chez les croisées, un modèle père a été employé, incluant les même effets fixes que chez les pures dans la matrice d'incidence $\mathbf{X}_p$, en ajoutant l'effet fixe de la lignée maternelle. La matrice $\mathbf{Z}_c$ est la matrice d'incidence des effets génétiques et $\mathbf{b}_c$, $\mathbf{s}_c$ et $\mathbf{e}_c$ sont les vecteurs de solutions des effets fixes, génétiques et résiduels respectivement. Les effets animaux et pères sont présumés suivre une distribution bivariée normale. L'hétérogénéité de variance résiduelle a été modélisée avec une variance résiduelle pour les pures, et par taille de cage de croisées (cages collectives de 6 ou 7 poules chez la lignée WA, et de 7 ou 8 poules chez la lignée BD). Les résidus sont également présumés suivre une distribution multivariée normale.

D'autres modèles bivariés ont été utilisés au sein d'une population (pure ou croisée) pour l'estimation des corrélations génétiques entre deux caractères (*e.g.* NOT et LNVAR).

1.4. Paramètres génétiques

Chez les pures, les héritabilités ont été estimées classiquement en faisant le rapport de la variance génétique additive d'un caractère sur le total des variances génétique additive et résiduelle de ce caractère. Chez les croisées, il a fallu adapté le calcul de l'héritabilité pour tenir compte 1/ du fait que le phénotype est une moyenne de phénotypes individuels et 2/ que les individus du groupe sont apparentés. L'héritabilité était estimée par le calcul suivant :

$$h^2_{c\cdot n} = \frac{4\sigma^2_{s_c}}{\sigma^2_{s_c} + n\sigma^2_{\hat{e}_{c\cdot n}}}$$

où n est le nombre de poules dans la cage, $4\sigma^2_{s_c}$ est la variance génétique additive des croisées et $\sigma^2_{\hat{e}_{c\cdot n}}$ la variance résiduelle.
A l'exception de LNVAR, pour lequel l'héritabilité était calculée avec la formule classique, de par la correspondance mathématique entre le phénotype individuel et de groupe et par les propriétés de la transformation logarithmique.

La base de données a été gérée à l'aide du logiciel R (R Core Team, 2020), le calcul des caractères de résilience également. L'estimation des composantes de la variance et le calcul des paramètres génétique ont été réalisés à l'aide du logiciel ASReml 4.1 (Gilmour *et al.*, 2015)

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Des caractères de résilience héritables

Les caractères de résilience et de production présentent des héritabilités faibles chez les poules pures et croisées. En effet, l'héritabilité de LNVAR a été estimée à 0,10 et 0,12, ASYM 0,04 et 0,02 et AUTO-R 0 ,06 et 0,08 chez les lignées WA et BD pures respectivement. Les erreurs types (**e.t.**) associés aux estimées de l'héritabilité étaient inférieures à 0,01. Sur des animaux apparentés à la lignée WA, les caractères de résilience basés sur les écarts de poids vif ont été étudiés et une héritabilité de 0,10 a été estimée pour LNVAR, de 0,11 pour AUTO-R, et de 0,09 pour ASYM (Berghof *et al.*, 2019a). Chez d'autres espèces, et sur des écarts de poids vif, de gain de poids, ou de production laitière, LNVAR a présenté des héritabilités entre 0,00 et 0,15 (voir les synthèses : Berghof *et al.*, 2019b ; Iung *et al.*, 2020). Des héritabilités de 0,09 pour AUTO-R et 0,00 pour ASYM ont également été rapportées à partir des écarts de production laitière chez les bovins (Poppe *et al.*, 2020). Pour NOT, l'héritabilité a été estimée à 0,11 et 0,12 chez les poules pures des lignées WA et BD respectivement. Ces résultats sont concordants avec ceux de la littérature rapportant NOT comme un caractère faiblement héritable ($0{,}01 \leq h^2 \leq 0{,}20$; Wolc *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2019).
Chez les poules croisées, tous les caractères à l'exception de LNVAR présentent des héritabilités plus faibles qu'en lignées pures (e.t. $\leq$ 0,05). C'est généralement ce qui est rapporté dans d'autres études (*e.g.* Besbes *et al.*, 1992 ; Nurgiartiningsih *et al.*, 2002 ; Biscarini *et al.*, 2008). Cela peut être expliqué par plusieurs facteurs : la surestimation de la variance génétique additive à cause d'effets de dominance, la diversité des environnements dans lesquels les animaux croisés évoluent, des différences de précision des estimées des composantes de la variance (*e.g.* dispositif déséquilibré en effectifs), à cause de la dissonance d'information d'apparentement entre les pures (père et mère connus) et les croisées (père connu, mère inconnue), ou des choix de modélisation (*e.g.* prise en compte des interactions sociales). Cela dit, le fait que les enregistrements soient des données de groupe ou individuelles chez les croisées n'est pas censé être à l'origine de résultats différents entre les données pures et croisées (en utilisant le calcul d'héritabilité adéquat) d'après nos démonstrations mathématiques et des simulations réalisées par Peeters (2015).

2.2. Des corrélations génétiques favorables avec la ponte

Les corrélations génétiques entre les caractères de résilience et de production semblent

synergiques, du moins en lignées pures. Ceci implique que l'amélioration génétique directe d'un caractère résulterait en l'amélioration génétique indirecte de l'autre. Chez les poules des lignées pures, les corrélations génétiques entre les caractères de résilience ont été estimées à -0,46 et -0,67 entre LNVAR et ASYM, -0,01 et -0,14 entre LNVAR et AUTO-R et -0,21 et -0,55 entre ASYM et AUTO-R chez les WA et BD respectivement. Ces corrélations génétiques sont synergiques car elles impliquent que, plus LNVAR diminue, plus ASYM augmente, et plus AUTO-R augmente. ASYM est très peu héritable et présente une moyenne phénotypique entre -1,51 et -0,40 et AUTO-R est faiblement héritable et présente une moyenne phénotypique proche de zéro (0,19 à 0,36). Des résultats similaires ont été rapportés chez des poules apparentées à la lignée WA (Berghof *et al.*, 2019a), d'autres plus mitigés chez la vache laitière (Poppe *et al.*, 2020). Phénotypiquement, l'interprétation conjointe de LNVAR et AUTO-R peut être compliquée : un animal avec un faible LNVAR peut présenter une forte AUTO-R car n'étant pas beaucoup affecté par les perturbations, les écarts de performances sont toujours fortement corrélés. Cela implique plus de travail sur la définition de ce caractère, comme le fait de ne calculer AUTO-R qu'en période de perturbation et non tout le long de la période d'observation.
Chez les poules croisées, les corrélations génétiques estimées entre les caractères de résilience n'étaient pas significativement différentes de zéro entre LNVAR et ASYM ou ASYM et AUTO-R. Les corrélations génétiques entre LNVAR et AUTO-R ont été estimées entre 0,21 et 0,83.

Chez les poules des lignées pures, les corrélations génétiques entre production et résilience ont été estimées à -0,72 et -0,83 pour NOT et LNVAR, -0,05 et 0,49 pour NOT et ASYM et 0,25 et 0,38 pour NOT et AUTO-R chez les lignées WA et BD respectivement. Il s'agit de la première étude sur les relations génétiques entre les caractères de résilience et la ponte. Dans d'autres populations, il a été rapporté que LNVAR et AUTO-R sont favorablement génétiquement corrélés à la santé, la longévité, la fertilité, le statut métabolique (*e.g.* cétose chez la vache laitière), et la production laitière (Elgersma *et al.*, 2018; Putz *et al.*, 2019; Poppe *et al.*, 2020).
Chez les poules des lignées croisées, Les corrélations génétiques pour NOT et LNVAR ont été estimées entre -0,80 et -0,54, -0,34 et 0,40 pour NOT et ASYM et entre -0,39 et 0,14 pour NOT et AUTO-R. Les résultats de cette étude montrent que la sélection sur NOT résulte en l'amélioration génétique indirecte de LNVAR mais potentiellement en la dégradation d'AUTO-R. Inclure des critères tels que LNVAR ou AUTO-R dans les programmes de sélection pourrait contribuer à la gestion de ces compromis entre caractère et d'améliorer la résilience des poules pondeuses (par la pondération économique dans l'objectif de sélection). Les relations génétiques avec les autres fonctions vitales doivent également être étudiées (efficience alimentaire, santé, bien-être, comportement...).

2.3. Des corrélations génétiques modestes entre populations pures et croisées

Les corrélations génétiques entre les pures et les croisées pour le même caractère indiquent que le caractère en pures partage une faible partie du déterminisme génétique du caractère en croisées. En effet, les valeurs des corrélations génétiques entre pures et croisées ont été estimées entre 0,16 et 0,63. Les corrélations génétiques entre les pures et les croisées habituellement varient entre 0,45 et 0,87 chez les volailles et les porcins dans la littérature (voir les synthèses : Wientjes and Calus, 2017; Duenk *et al.*, 2021). Le fait que la corrélation génétique entre une population pure et croisée pour un même caractère soit inférieure à 1 peut s'expliquer par plusieurs phénomènes dont : 1/ les interactions génotype-par-génotype (effets de dominance, épistasie...), 2/ les interactions génotype-par-environnement (différences d'environnement entre les pures et les croisées impliquant différentes expressions du génome et du reclassement parmi les candidats à la sélection), 3/ des différences de définition du caractère entre les deux populations : bien que la variable soit la même, la mesure peut différer (exemple : donnée individuelle ou de groupe, effet expérimentateur...). Cela implique que les données des animaux croisées peuvent être utiles car elles apportent une information supplémentaire à celle des pures et peuvent améliorer la précision des valeurs génétiques estimées des reproducteurs de lignées pures sur des caractères croisés (Wei and van der Werf, 1994; Bijma and van Arendonk, 1998).

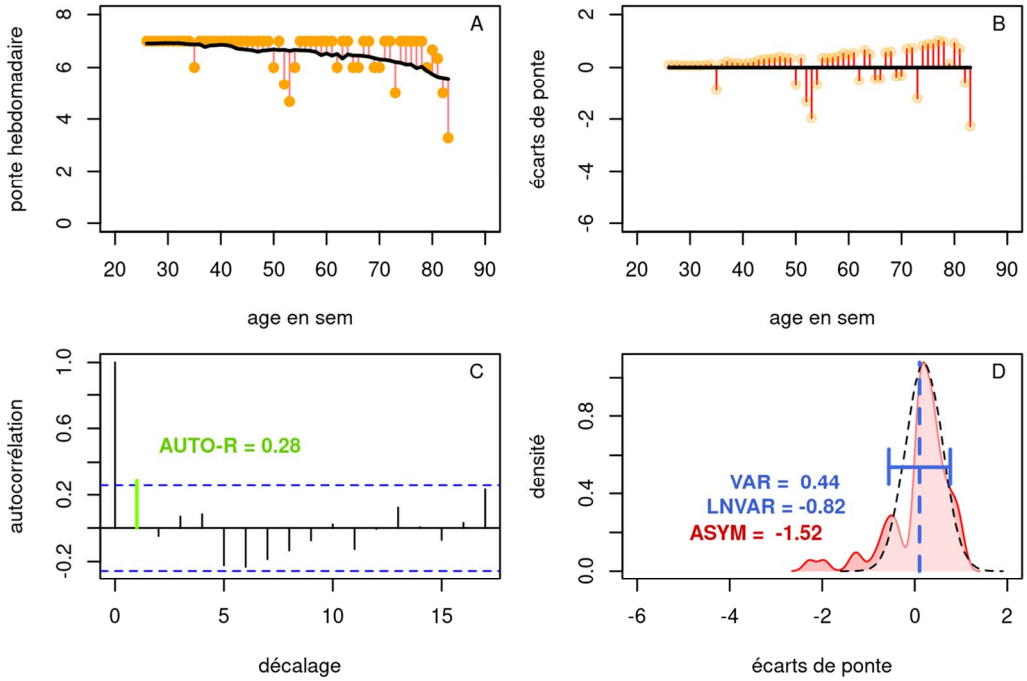
CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que LNVAR et AUTO-R sont héritables, et sont favorablement génétiquement corrélés à la ponte. Ce sont des indicateurs de résilience complémentaires : LNVAR indique la sévérité et la durée d'une réponse à une perturbation alors qu'AUTO-R indique le taux de récupération. LNVAR semble déjà pouvoir faire l'objet d'études d'inclusion dans les programmes de sélection, alors qu'AUTO-R pourrait faire l'objet de nouvelles définitions pour mieux cibler les périodes perturbées. Les corrélations génétiques pour le même caractère entre les populations pures et croisées sont modestes, ce qui suggère que le déterminisme génétique du caractère est en partie différent dans les deux populations. Cela implique que des stratégies de sélection intégrant l'information des croisées peuvent être bénéfiques aux programmes d'amélioration génétique de la résilience chez les poules pondeuses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Berghof T.V.L. *et al.*, 2019a. Front. Genet., (10), 1216.
Berghof T.V.L. *et al.*, 2019b. Front. Genet., (9), 692.
Besbes B. *et al.*, 1992. Genet Sel Evol, 539–552.
Bijma P. et van Arendonk, J.A.M., 1998. Anim. Sci. (66), 529–542.
Biscarini F. *et al.*, 2008. J. Anim. Sci., (86), 2845–2852.
Duenk P. *et al.*, 2021. J Anim Sci., (99), 8, 1-24.
Elgersma G.G. *et al.*, 2018. J. Dairy Sci., (101), 1240–1250.
Friggens N.C. *et al.*, 2017. Animal, (11), 2237–2251.
Gilmour A.R. *et al.*, 2015. Programme ASReml 4.1. Disponible sur : www.vsni.co.uk.
Iung L.H. *et al.*, 2020. J Anim Breed Genet, (137), 263–280.
Liu Z. *et al.*, 2019. BMC Genet, (20), 67.
Mulder H.A. *et al.*, 2016. Genet Sel Evol, (48), 39.
Nurgiartiningsih V. *et al.*, 2002. Arch. Anim. Breed. (45), 501–508.
Peeters K., 2015. Ph.D. de l'université de Wageningen. Disponible sur : https://edepot.wur.nl/361159.
Poppe M. *et al.*, 2020. J. Dairy Sci, (103), 1667–1684.
Putz A.M. *et al.*, 2019. Front. Genet., (9), 660.
R Core Team, 2020. Available at: https://www.R-project.org.
Rauw W.M. *et al.*, 1998. Livest. Prod. Sci., (56), 15–33.
Rendel J. M., 1963. Genetics, (48), 391–408.
Scheffer M. *et al.*, 2018. Proc Natl Acad Sci USA, (115), 11883–11890.
Wei M. *et al.*, 1994. Anim. Sci., (59), 401–413.
Wientjes Y.C.J. *et al.*, 2017. J. Anim. Sci., (95), 3467.
Wolc A. *et al.*, 2012. Animal Genetics, (43), 87–96.
Wolc A. *et al.*, 2011. Poult. Sci., (90), 30–34.

Figure 1. Illustration des caractères de résilience chez une poule pondeuse



Légende : Le graphique **A** représente la ponte hebdomadaire observée d'une poule en fonction de l'âge (points orange) et la ponte attendue (moyenne du lot, courbe noire). Le graphique **B** représente les écarts de ponte (segments rouges). Le graphique **C** est le corrélogramme de la série temporelle des écarts de ponte en fonction du décalage temporel entre deux points, et le segment vert représente l'autocorrélation de décalage 1 (caractère AUTO-R). Le graphique **D** représente la distribution des valeurs des écarts de ponte (courbe rouge), la courbe noire et pointillée représente la distribution normale la plus proche, laissant apparaitre les queues de distribution entre la distribution normale théorique et celle observée. Le coefficient d'asymétrie de la distribution (caractère ASYM) est en rouge. Le segment vertical pointillé bleu représente la moyenne observée des écarts de ponte et le segment horizontal bleu leur variance (qui une fois transformée par logarithme népérien donne le caractère LNVAR).

SELECTIONNER SUR LE COMPORTEMENT AU NID POUR AMELIORER LA PRODUCTION D'ŒUFS DES POULES EN SYSTEMES ALTERNATIFS A LA CAGE

Bécot Lorry[1,2], Bédère Nicolas[1], Coton Jenna[2], Burlot Thierry[2], Le Roy Pascale[1]

[1]PEGASE, INRAE, Institut Agro, 16 Le Clos 35590 SAINT-GILLES,
[2]NOVOGEN, 5 rue des Compagnons 22960 PLEDRAN
lorry.becot@inrae.fr

RÉSUMÉ
Dans l'UE, la majorité des poules pondeuses sont désormais élevées dans des systèmes alternatifs à la cage (sol, plein air et biologique). Dans ces systèmes, les poules doivent pondre dans des nids car les œufs pondus hors-nid sont généralement déclassés, entrainant une perte de revenus pour l'éleveur. L'objectif de cette étude est d'identifier de potentiels critères de sélection sur le comportement de ponte au nid, afin d'améliorer l'intensité de ponte dans le nid (IPN). Les poules ont été élevées dans des parcs au sol. Le comportement de ponte au nid a été enregistré en continu, entre 24 et 64 semaines d'âge, avec des nids électroniques individuels utilisant l'identification par radiofréquence. IPN a alors pu être calculée pour chaque poule, ainsi que le rythme de ponte (nombre de séries de ponte, heure de ponte moyenne et logarithme de la variance de l'heure de ponte), la durée de ponte moyenne (temps moyen passé au nid pour pondre), la distance moyenne séparant les nids de ponte et l'utilisation des nids pour la ponte. Les paramètres génétiques (héritabilités et corrélations génétiques) de tous ces caractères ont été estimés pour 927 Rhode Island Red (RIR) et 980 White Leghorn (WL), avec un modèle animal. L'héritabilité de IPN était de 0,16 et 0,23 pour les lignées RIR et WL respectivement. Pour les deux lignées, les caractères de rythme de ponte se sont révélés plus fortement héritables (entre 0,36 et 0,65) et génétiquement très corrélés à IPN (entre -0,77 et -0,49), à l'exception de l'heure de ponte moyenne pour RIR (-0,06). Des héritabilités de 0,55 et 0,68, de 0,31 et 0,38 et de 0,20 et 0,17 ont été estimées pour, respectivement, la durée de ponte moyenne, la distance moyenne séparant les nids de ponte et l'utilisation des nids. Aucune corrélation génétique défavorable n'a été estimée entre ces caractères et IPN. Sélectionner sur le rythme de ponte afin d'améliorer plus rapidement IPN, tout en optimisant l'occupation des nids, pourrait donc être une stratégie intéressante pour réduire la ponte hors-nid. Les relations avec les qualités de l'œuf doivent être étudiées avant d'intégrer ces nouveaux caractères dans le schéma de sélection.

ABSTRACT
Select on nesting behavior to improve egg production for hens in cage-free systems
In the EU, the majority of laying hens are now raised in cage-free systems (barn, free-range, and organic). In these systems, hens must lay in nests because eggs laid off-nest are usually downgraded, resulting in a loss of income for the farmer. This study aims to identify potential selection criteria on nesting behavior, to improve the laying rate in the nests (LRN). Hens were raised in floor pens. The nesting behavior was recorded continuously, between 24 and 64 weeks of age, with individual electronic nests using radio-frequency identification. LRN was then calculated for each hen, as well as the laying rhythm (clutch number, mean oviposition time, and logarithm of the variance of oviposition time), the mean laying duration (mean time spent in the nests for laying), the mean distance between nests of laying, and the nest acceptance for laying. Genetic parameters (heritability and genetic correlations) for traits were estimated for 927 Rhode Island Red (RIR) and 980 White Leghorn (WL), with an animal model. Heritability estimates of LRN were 0.16 and 0.23 for the RIR and WL lines, respectively. For both lines, laying rhythm traits were more highly heritable (between 0.36 and 0.65) and genetically highly correlated with LRN (between -0.77 and -0.49), except for the mean oviposition time in RIR (-0.06). Heritability estimates from 0.55 and 0.68, 0.31 and 0.38, and 0.20 and 0.17 were reported for, respectively, the mean laying duration, the mean distance between nests of laying, and the nest acceptance for laying. No unfavorable genetic correlation was estimated between these traits and LRN. Selecting for the laying rhythm to improve LRN, while optimizing the occupation rate of the nests, could therefore be an interesting strategy to reduce the off-nest laying. Relationships with the egg qualities must be studied before incorporating these new traits into the breeding programs.

INTRODUCTION

Dans l'UE, 52 % des poules pondeuses ont été élevées dans des systèmes alternatifs à la cage (sol, plein air et biologique) en 2020 (Commission Européenne, 2021). Dans ces systèmes les poules doivent pondre dans des nids pour que les œufs puissent être collectés automatiquement. Les œufs pondus hors-nids représentent en moyenne 1 à 3% de la production et dépassent parfois les 10% en fonction du lot et des conditions environnementales (source NOVOGEN). Les œufs pondus hors-nid doivent être ramassés à la main, travail fastidieux, et sont souvent salis par les fientes ou cassés, engendrant une perte de production pour l'éleveur. Réduire la ponte hors-nid et améliorer la ponte au nid sont donc des objectifs majeurs pour ces systèmes.

L'accès au nid pour pondre est source de compétition entre les poules, particulièrement lorsque le taux d'occupation des nids est important, forçant certains individus à pondre hors-nid (Villanueva *et al.*, 2017). Certaines poules ont aussi tendance à pondre toujours au même endroit et dans des nids déjà occupés, entrainant un risque d'étouffement des poules dans les nids collectifs et de ponte hors-nid (Riber, 2010). Choisir des types génétiques passant peu de temps dans les nids et capables d'utiliser des nids différents pourrait permettre de limiter les risques de mortalité, d'optimiser l'utilisation des nids et de réduire la ponte hors-nid. Cependant, le déterminisme génétique de ces caractères est mal connu (Icken *et al.*, 2013).

Actuellement, les poules commerciales proviennent majoritairement d'animaux sélectionnés sur des performances mesurées en cage individuelle, ne permettant pas d'identifier les individus qui pondent hors-nid. Par ailleurs, plusieurs travaux menés en cage individuelle ont montré l'intérêt des caractères de rythme de ponte, tels que le nombre de séries de ponte ou l'heure de ponte moyenne, pour améliorer par sélection la production d'œufs (Wolc *et al.*, 2019 ; Chen et Tixier-Boichard, 2003 ; Yoo *et al.*, 1988). Peu d'études sur le sujet ont été réalisées en systèmes alternatifs à la cage (Bécot *et al.*, 2021a et b ; Icken *et al.*, 2008).

Cette étude vise à estimer les paramètres génétiques de caractères de comportement de ponte au nid, qui pourraient être exploités en sélection pour réduire la ponte hors-nid et améliorer la ponte au nid des poules en systèmes alternatifs à la cage. Ces caractères sont désormais accessibles grâce au développement de nids électroniques capables de mesurer des performances individuelles, notamment la ponte au nid, lorsque les animaux sont élevés en groupe au sol (Bécot *et al.*, 2021b ; Thurner *et al.*, 2006 ; Burel *et al.*, 2002 ; Marx *et al.*, 2002).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Populations et conditions d'élevage

Deux lignées pures, de races Rhode Island Red (RIR) et White Leghorn (WL) appartenant à la société NOVOGEN (Plédran, France) ont été mobilisées. Les phénotypes ont été mesurés entre 2018 et 2020 sur 927 poules RIR (2 lots), issues de 98 pères et 348 mères, ainsi que sur 980 poules WL (2 lots), issues de 99 pères et 352 mères. Le pédigrée connu et utilisé pour l'estimation des paramètres génétiques remontait sur 5 générations minimum par lignée. Pour chaque lignée et lot, les animaux étaient élevés dans un bâtiment au sol jusqu'à 17 semaines d'âge. Ils étaient ensuite transférés dans un autre bâtiment au sol et y restaient jusqu'à 64 semaines d'âge. Ce bâtiment était équipé de nids électroniques individuels disposés en ligne sur deux niveaux. La densité était d'environ 1 nid pour 5 poules. Les poules étaient élevées avec des coqs (environ 1 coq pour 10 poules).

1.2. Mesure du comportement de ponte au nid

Le comportement de ponte au nid a été mesuré en continu avec des nids électroniques individuels développés par NOVOGEN et utilisant l'identification par radiofréquence. Chaque nid était équipé d'une antenne et chaque poule d'un transpondeur attaché à la patte. Le transpondeur permettait de détecter la poule lorsqu'elle utilisait un nid. Pour chaque visite de nid, l'identifiant de la poule, la localisation du nid, l'heure d'entrée et de sortie du nid étaient enregistrés. Un capteur d'œuf placé à l'arrière du nid permettait de savoir si la poule avait pondu et enregistrait l'heure de la ponte.

Après une phase d'adaptation des poules à l'utilisation des nids, le comportement de ponte au nid a été mesuré en continu entre 24 et 64 semaines d'âge. Seules les pontes au nid des poules ayant vécu plus de la moitié de la période de mesure ont été conservées, soit 92% des RIR et 88% des WL. Pour le premier lot de RIR, les données après 58 semaines d'âge n'ont pas été conservées à cause d'une infection des poules qui a modifié leurs performances. Ainsi, 191 850 et 212 421 pontes au nid, pour les lignées RIR et WL respectivement, ont été enregistrées et exploitées pour le calcul des phénotypes.

1.3. Calcul des phénotypes

La production d'œufs dans le nid a été définie avec l'intensité de ponte dans le nid (IPN) :

$$\text{IPN} = \frac{\text{Nombre d'oeufs pondus dans le nid}}{\text{Nombre de jours de vie sur la période}} \times 100$$

Les poules avec IPN < 50% n'ont pas été conservées pour l'analyse de ce caractère afin de ne pas prendre en compte celles qui utilisaient très peu les nids pour pondre (ponte hors-nid ou absence de ponte) à l'origine d'une double distribution de IPN. Ces poules ont en revanche été considérées dans un caractère binaire, l'utilisation des nids pour pondre (UN). La valeur 0 a été attribuée aux poules ayant une faible

capacité à pondre au nid, soit avec un IPN < 50%. La valeur 1 a quant à elle été attribuée aux poules avec IPN ≥ 50%.

Le rythme de ponte a été caractérisé par le nombre de séries de ponte (NSP), l'heure de ponte moyenne (HPM) et le logarithme de la variance de l'heure de ponte (LVHP). Ces trois caractères ont été calculés en suivant une procédure décrite en détail dans Bécot *et al.* (2021b).

Pour une ponte au nid donnée, la durée de ponte est la différence entre l'heure de sortie et l'heure d'entrée au nid. La durée de ponte moyenne (DPM) a été calculée comme la moyenne des durées de ponte par poule.

Pour différencier les poules ayant tendance à pondre dans des nids proches de celles allant pondre dans des nids éloignés les uns des autres, la distance entre les nids de ponte a été calculée. Pour une poule donnée, elle correspondait aux distances horizontales, en nombre de nids, qui séparaient les nids de ponte de deux jours consécutifs. Cette distance n'a pas été calculée lorsque les pontes étaient séparées par un ou plusieurs jours sans ponte au nid, pour éviter de mesurer des comportements différents. La distance moyenne entre les nids de ponte (DIST) a ensuite été calculée par poule. Les poules avec au moins 10 performances sur la période ont été conservées pour le calcul de DPM et DIST.

Les statistiques descriptives de ces 7 caractères sont données dans le tableau 1.

1.4. Estimation des paramètres génétiques

Les 7 caractères ont été normalisés par lignée avec le package R « bestNormalize » (Peterson et Cavanaugh, 2019), puis centrés et réduits afin de faciliter la convergence des modèles. Les paramètres génétiques (héritabilités et corrélations génétiques) ont été estimés avec la méthode du maximum de vraisemblance restreint appliquée au modèle animal suivant :

$$\mathbf{y} = \mathbf{1}\mu + \mathbf{Xb} + \mathbf{Za} + \mathbf{e}$$

Où **y** est le vecteur des observations pour les 7 caractères analysés : IPN, NSP, HPM, LVHP, DPM, DIST et UN. **1** est un vecteur de uns et μ la moyenne du caractère. **X** et **b** sont respectivement la matrice d'incidence et le vecteur associés à l'effet fixe du lot. **Z** et **a** sont respectivement la matrice d'incidence et le vecteur associés à l'effet aléatoire génétique additif. $\mathbf{a} \sim N(0, \sigma_a^2 \times \mathbf{A})$, où σ_a^2 est la variance de l'effet génétique additif et **A** la matrice de parenté. **e** est le vecteur de l'effet aléatoire résiduel. $\mathbf{e} \sim N(0, \sigma_e^2 \times \mathbf{I})$, où σ_e^2 est la variance résiduelle et **I** la matrice identité.

Les 7 caractères ont été analysés conjointement en utilisant la suite de programmes BLUPF90 (Misztal *et al.*, 2002). Les paramètres génétiques ont été estimés avec REMLF90. Les erreurs-standards des estimations ont ensuite été calculées avec AIREMLF90, en partant des points d'arrivée de REMLF90 et en fixant l'analyse à une seule itération.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Des héritabilités substantielles

La plupart des caractères de comportement de ponte au nid se sont révélés moyennement à fortement héritables pour les deux lignées. Une héritabilité faible (0,16) et moyenne (0,23) a été estimée pour IPN et les lignées RIR (tableau 2) et WL (tableau 3) respectivement. Des héritabilités autour de 0,20 ont été estimées pour UN dans les deux lignées. Les caractères de rythme de ponte étaient plus fortement héritables, avec des valeurs comprises entre 0,36 et 0,65 pour RIR, et entre 0,47 et 0,55 pour WL. Ces résultats sont cohérents avec les travaux menés en cage individuelle. Par exemple, Yoo *et al*. (1988) ont estimé de fortes héritabilités pour HPM, comprises entre 0,43 et 0,57 pour des WL. Wolc *et al.* (2019) ont estimé que NSP était fortement héritable sur des RIR et WL (0,41-0,42). Pour ce même caractère, Icken *et al.* (2008) ont néanmoins estimé une héritabilité de 0,15 sur des animaux élevés au sol, mais à partir d'un effectif faible composé de 272 poules RIR.

DPM s'est révélée fortement héritable, avec des valeurs de 0,55 et 0,68 en fonction de la lignée (tableaux 2 et 3). Des résultats différents ont été rapportés par Icken *et al.* (2013), avec la durée de ponte répétée, où les héritabilités estimées étaient très variables en fonction de l'âge des poules, allant de 0,10 à 7 mois à 0,56 à 11 mois.

Pour les deux lignées étudiées, DIST était moyennement héritable (0,31 et 0,38). Un effet génétique pour le choix des nids de ponte fait par les poules est également rapporté par van den Oever *et al.* (2021), qui ont étudié 5 lignées de poulets de chair élevées séparément dans des parcs au sol. Des différences en fonction de la lignée ont été observées, 2 lignées pondaient majoritairement dans les nids du coin du parc alors que les 3 autres utilisaient de manière homogène l'ensemble des nids.

2.2. Des corrélations génétiques favorables

Les corrélations génétiques entre IPN et les autres caractères de comportement de ponte au nid étaient favorables pour les deux lignées. IPN et les caractères de rythme de ponte NSP et LVHP étaient fortement génétiquement corrélés pour RIR (-0,59 et -0,57 ; tableau 2) et WL (-0,74 et -0,77 ; tableau 3). Ces valeurs négatives signifient que, génétiquement, les poules qui font peu de séries de ponte (donc peu de pauses) et qui ont une heure de ponte stable, pondent mieux dans les nids. La corrélation génétique entre IPN et HPM était faible pour RIR (-0,06) mais forte pour WL (-0,49). Dans la littérature, des études menées en cage individuelle ont aussi montré qu'un faible nombre de séries de ponte était génétiquement associé à un nombre total d'œufs commercialisables élevé (rg = -0,55 et -0,28 pour respectivement des lignées RIR et WL ; Wolc *et al.*, 2019) et à une

intensité de ponte élevée (rg = -0,54 pour des poules pondeuses naines à œufs bruns ; Chen et Tixier-Boichard, 2003). De même, Icken *et al.* (2008) ont mesuré NSP chez des RIR élevées au sol avec des nids électroniques et ont rapporté une corrélation génétique de -0,53 entre NSP et le nombre d'œufs pondus au nid. En plus de IPN, NSP et LVHP seraient donc de potentiels critères de sélection intéressants pour améliorer la ponte au nid des RIR et WL. Dans cette étude, la corrélation génétique entre ces deux caractères était forte pour les deux lignées (≥ +0,89), suggérant que ce sont des caractères au déterminisme génétique similaire. LVHP serait plus intéressant que NSP car, contrairement à NSP, il peut aussi être calculé pour les poules qui pondent moins souvent dans les nids (IPN ≤ 50%), donc être mesuré sur davantage d'individus. L'intérêt de HPM pour améliorer la ponte au nid est plus mitigé, la corrélation génétique estimée avec IPN étant faible pour RIR.

Les corrélations génétiques entre IPN et les caractères DPM, DIST et UN étaient favorables pour les deux lignées. Pour RIR, ces trois caractères étaient faiblement corrélés génétiquement à IPN, avec des valeurs comprises entre -0,03 et +0,18 (tableau 2). Pour WL, la corrélation génétique avec IPN était faible pour DIST (+0,09), moyenne pour UN (+0,33) et forte pour DPM (-0,43 ; tableau 3). Les poules WL ayant une forte IPN auraient un potentiel génétique à passer moins de temps dans les nids et à mieux les utiliser que celles avec une faible IPN. Enfin, la corrélation génétique entre DPM et DIST était positive et forte pour RIR (+0,43) alors qu'elle était faible pour WL (+0,12). Par conséquent, les poules RIR qui passent du temps dans les nids pour pondre auraient un potentiel génétique à pondre dans des nids éloignés les uns des autres. Cette corrélation génétique défavorable devra être prise en compte si ces deux caractères sont intégrés dans les schémas de sélection des RIR. A notre connaissance, DPM, DIST et UN n'ont pas encore été étudiés dans d'autres populations de poules pondeuses.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mieux connaître le déterminisme génétique du comportement de ponte au nid chez la poule pondeuse, à présent mesurable à grande échelle grâce aux nids électroniques. Dans l'objectif de réduire la ponte hors-nid et d'améliorer la ponte au nid par sélection, IPN est un premier critère de choix qui reflète directement la production d'œufs au nid. Il présente cependant des héritabilités faibles à modérées. NSP et LVHP se sont révélés plus héritables et génétiquement très corrélés à IPN. Ils pourraient être utilisés comme critères complémentaires à IPN, en apportant davantage d'information et permettre ainsi d'améliorer plus rapidement la ponte au nid. DPM et DIST étant sous l'influence de facteurs génétiques, les utiliser comme critères de sélection pourrait permettre d'optimiser l'utilisation des nids et de réduire la ponte hors-nid. Enfin, UN pourrait être utilisé en sélection afin d'éliminer les individus n'utilisant pas les nids pour pondre, car préférant pondre hors-nid ou n'ayant pas la capacité de pondre. Les relations entre les caractères de comportement de ponte au nid et les qualités de l'œuf doivent maintenant être étudiées avant d'intégrer ces nouveaux caractères dans le schéma de sélection.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bécot L., Bédère N., Le Roy P., 2021a. INRAE Prod. Anim., 34 (1), 1-14.
Bécot L., Bédère N., Burlot T., Coton J., Le Roy P., 2021b. PLOS ONE, (16), e0251037.
Burel C., Ciszuk P., Wiklund B.-S., Kiessling A., 2002. App. Anim. Behav. Sci., (77), 167-171.
Chen C., Tixier-Boichard M., 2003. Poult. Sci., (82), 709-720.
Commission Européenne, 2021. EU market situation for eggs. Consulté le 05/11/2021.
Icken W., Cavero D., Schmutz M., Thurner S., Wendl G., Preisinger R., 2008. World's Poult. Sci. J., (64), 231-234.
Icken W., Thurner S., Heinrich A., Kaiser A., Cavero D., Wendl G., Fries R., Schmutz M., Preisinger R., 2013. Poult. Sci., (92), 2276-2282.
Marx G., Klein S., Weigend S., 2002. Arch. Geflügelk., (66), 141-144.
Misztal I., Tsuruta S., Strabel T., Auvray B., Druet T., Lee D.H., 2002. In: 7th WCGALP, Montpellier, pp1-2.
Peterson R.A., Cavanaugh J.E., 2019. J. of App. Stat., 1-16.
Riber A.B., 2010. App. Anim. Behav. Sci., (123), 24-31.
Thurner S., Wendl G., Preisinger R., 2006. In: 12th European Poultry Conference, Verona, pp. 1-6.
van den Oever A.C.M., Kemp B., Rodenburg T.B., van de Ven L.J.F., Bolhuis J.E., 2021. Anim., (15), 100030.
Villanueva S., Ali A.B.A., Campbell D.L.M., Siegford J.M., 2017. Poult. Sci., (96), 3011-3020.
Wolc A., Jankowski T., Arango J., Settar P., Fulton J.E., O'Sullivan N.P., Dekkers J.C.M., 2019. Poult. Sci., (98), 39-45.
Yoo B.H., Sheldon B.L., Podger R.N., 1988. Br. Poul. Sci., (29), 627-637.

Tableau 1. Statistiques descriptives des caractères de comportement au nid

	Rhode Island Red					White Leghorn				
Caractère[a]	**n[b]**	**Moy[c]**	**ET[d]**	**Min[e]**	**Max[f]**	**n[b]**	**Moy[c]**	**ET[d]**	**Min[e]**	**Max[f]**
IPN (%)	788	91,80	8,32	51,45	99,65	879	86,53	9,37	50,71	98,58
NSP	788	3,98	3,88	1,00	32,00	879	8,26	5,92	1,00	40,00
HPM (hh:mm)	831	02:28	01:07	00:04	06:17	920	03:39	01:01	00:28	06:38
LVHP (heures²)	831	0,41	0,76	-2,59	2,40	920	0,79	0,61	-1,24	2,65
DPM (minutes)	832	41	17	11	106	921	64	23	16	142
DIST (nids)	827	7,80	3,03	0,47	20,26	918	9,21	3,06	2,54	21,46
	n[b]	**0**	**1**			**n[b]**	**0**	**1**		
UN[l] (%)	927	14,99	85,01			980	10,31	89,69		

[a]IPN, intensité de ponte dans le nid ; NSP, Nombre de series de ponte ; HPM, heure de ponte moyenne ; LVHP, Logarithme de la variance de l'heure de ponte ; DPM, durée de ponte moyenne ; DIST, distance moyenne entre les nids de ponte ; UN, utilisation des nids pour pondre (0 pour les poules avec IPN < 50%, 1 pour les autres) ;[b]n, nombre de poules ; [c]Moy, moyenne ; [d]ET, écart-type ; [e]Min, minimum ; [f]Max, maximum.

Tableau 2. Paramètres génétiques et corrélations phénotypiques des caractères de comportement au nid pour la lignée Rhode Island Red

	IPN	**NSP**	**HPM**	**LVHP**	**DPM**	**DIST**	**UN**
IPN	**0,16 ± 0,03**	-0,59 ± 0,08	-0,06 ± 0,10	-0,57 ± 0,08	-0,03 ± 0,11	0,18 ± 0,11	0,14 ± 0,14
NSP	-0,37	**0,36 ± 0,03**	0,76 ± 0,05	0,89 ± 0,03	0,20 ± 0,08	0,24 ± 0,10	0,16 ± 0,13
HPM	-0,10	0,52	**0,65 ± 0,04**	0,76 ± 0,04	-0,01 ± 0,08	0,27 ± 0,10	0,20 ± 0,12
LVHP	-0,35	0,69	0,64	**0,40 ± 0,04**	0,00 ± 0,09	0,17 ± 0,11	0,11 ± 0,13
DPM	0,04	0,13	0,05	0,07	**0,55 ± 0,07**	0,43 ± 0,10	0,01 ± 0,13
DIST	0,04	0,06	0,00	0,04	0,16	**0,31 ± 0,05**	0,26 ± 0,13
UN	NA[a]	NA[a]	-0,01	-0,08	-0,01	-0,03	**0,20 ± 0,04**

Diagonale : héritabilités ± erreur standard ; au-dessus : corrélations génétiques ± erreur standard ; en-dessous : corrélations phénotypiques. Les abréviations sont décrites dans la légende du tableau 1. [a]Les corrélations phénotypiques entre UN et les caractères IPN et NSP n'ont pas pu être calculées car toutes les poules avec une donnée pour IPN et NSP avaient la valeur 1 pour UN.

Tableau 3. Paramètres génétiques et corrélations phénotypiques des caractères de comportement au nid pour la lignée White Leghorn

	IPN	**NSP**	**HPM**	**LVHP**	**DPM**	**DIST**	**UN**
IPN	**0,23 ± 0,07**	-0,74 ± 0,13	-0,49 ± 0,16	-0,77 ± 0,13	-0,43 ± 0,17	0,09 ± 0,21	0,33 ± 0,30
NSP	-0,45	**0,55 ± 0,08**	0,67 ± 0,09	0,97 ± 0,02	0,42 ± 0,12	0,18 ± 0,16	-0,17 ± 0,22
HPM	-0,30	0,50	**0,55 ± 0,08**	0,63 ± 0,09	0,07 ± 0,13	-0,03 ± 0,16	0,02 ± 0,21
LVHP	-0,50	0,83	0,48	**0,47 ± 0,08**	0,37 ± 0,12	0,24 ± 0,16	-0,15 ± 0,22
DPM	-0,07	0,10	-0,03	0,13	**0,68 ± 0,09**	0,12 ± 0,15	-0,23 ± 0,20
DIST	0,03	0,07	-0,04	0,06	0,08	**0,38 ± 0,08**	0,36 ± 0,23
UN	NA[a]	NA[a]	-0,07	-0,13	0,00	0,15	**0,17 ± 0,06**

Diagonale : héritabilités ± erreur standard ; au-dessus : corrélations génétiques ± erreur standard ; en-dessous : corrélations phénotypiques. Les abréviations sont décrites dans la légende du tableau 1. [a]Les corrélations phénotypiques entre UN et les caractères IPN et NSP n'ont pas pu être calculées car toutes les poules avec une donnée pour IPN et NSP avaient la valeur 1 pour UN.

EST-IL POSSIBLE DE SELECTIONNER DES POIDS D'ŒUFS PLUS HOMOGENES ? DONNEES EXPERIMENTALES EN CANARD

Chapuis Hervé, Morisson Mireille, Bodin Loys

GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE ENVT, 31326 CASTANET-TOLOSAN
herve.chapuis@inrae.fr

RÉSUMÉ

Modéliser la variabilité résiduelle d'une performance d'intérêt offre des clés pour mieux la maîtriser et ainsi améliorer l'homogénéité du caractère désiré. Ainsi, dans 3 populations expérimentales de canard (deux communes I44 et PEK77 et une Barbarie BAR11), nous avons modélisé la variabilité résiduelle du poids des œufs, qui est une mesure répétée associée aux femelles en ponte. Avec un modèle à répétabilité, l'héritabilité du poids des œufs estimée est modérée en PEK77 (h^2=0,27±0,09) et plus élevée en BAR11 (h^2=0,42±0,10) et I44 (h^2=0,72±0,36). En utilisant un DHGLM, on décrit la variance résiduelle en introduisant des effets fixes et aléatoires, et en particulier une composante génétique qui traduit la sensibilité individuelle aux variations environnementales. La variance additive sur la moyenne est alors légèrement augmentée, et on estime une composante de variance significativement non nulle pour cette sensibilité, de nature à expliquer en partie la différence observée pour les écarts-types entre les canes extrêmes pour la variabilité du poids des œufs. La corrélation génétique estimée entre moyenne et variabilité du poids des œufs est quasi nulle ($\varrho_{uv} = -0{,}03 \pm 0{,}10$) en BAR11, négative et donc propice à l'amélioration de l'homogénéité des performances en I44 ($\varrho_{uv} = -0{,}30 \pm 0{,}17$) et positive en PEK77 ($\varrho_{uv} = 0{,}33 \pm 0{,}12$). L'amélioration de l'homogénéité des caractéristiques des œufs dans les schémas « pondeuses » est donc possible, sous réserve d'utiliser un modèle adéquat.

ABSTRACT

Towards an improved uniformity of egg related traits ? An illustration using experimental Duck data.

Product uniformity is often a desirable breeding goal. Here we analyzed egg weight data from three INRAE experimental lines : two common duck populations (PEK77 and I44) and one Muscovy duck line (BAR11). Using an homoscedastic repeatability model, heritabilities ranged from moderate in PEK77 (h^2=0,27) to high in I44 (h^2=0.72). Using a DHGLM, which is a hierarchical GLM including random effects for the dispersion, we estimated a non-zero variance component for the genetic contribution to the dispersion of egg weights. We also estimated the genetic correlation between breeding values contributing to the mean value and to the dispersion of egg weights. This correlation ranged from negative, and therefore favourable, in I44 ($\varrho_{uv} = -0{,}30 \pm 0{,}17$) to positive in PEK77 ($\varrho_{uv} = 0{,}33 \pm 0{,}12$), and was non different from nullity in BAR11 ($\varrho_{uv} = -0{,}03 \pm 0{,}10$). A positive correlation may hinder joint improvement of mean value and uniformity of performances. Therefore, proper modelling of residual variation is required to carry on a successful reduction of dispersion and simultaneously an improvement of the mean value of the trait of interest.

INTRODUCTION

Le poids des œufs est un caractère d'intérêt dans la plupart des productions avicoles. Chez les pondeuses on s'intéresse à la masse d'œufs produite, tandis que, dans la filière chair, le poids des œufs, qui est fortement corrélé au poids de l'individu à un âge précoce (Niknafs et al 2012 ; Silva et al, 2013), peut être introduit dans l'objectif de sélection.
Quand on s'intéresse à des performances répétées d'un individu, comme la succession des poids des œufs d'une cane, on peut non seulement vouloir améliorer la moyenne de la série mais aussi son homogénéité. Comme Wolc et al (2011) l'ont souligné, l'uniformité du poids des œufs est recherchée car les trop petits œufs sont invendables tandis que les trop gros œufs sont plus sujets aux fêlures de la coquille à l'emboitage. Par ailleurs les taux d'éclosion étant réduits quand l'œuf est trop grand (Abiola et al, 2008) la forte concentration des valeurs du poids de l'œuf autour d'une moyenne donnée est aussi recherchée dans les cheptels parentaux utilisés en multiplication. Pourtant dans ces filières le poids des œufs est souvent pris en compte à travers une simple moyenne calculée sur un faible nombre d'unités (3 à 10) en un ou plusieurs points sur la courbe de ponte. Ce caractère présente généralement une héritabilité de modérée à élevée: chez le canard de 0,35 en Tsaiya (Cheng et al, 1995) à 0,61 dans la race Shan Ma (Lin et al, 2016).
Si le poids de chaque œuf est disponible, des modèles plus sophistiqués peuvent être utilisés, parmi lesquels le modèle à répétabilité est le plus commun. Selon ce modèle, qualifié d'homoscédastique, la variance résiduelle est la même pour toutes les observations.
D'autres modèles, dits hétéroscédastiques, prennent en compte l'hétérogénéité des variances résiduelles dues à des effets environnementaux. San Cristobal et al (1998) ont considéré qu'à côté de ces effets environnementaux, un effet génétique pouvait aussi contribuer à l'hétérogénéité de la variance résiduelle. Une interprétation de ce modèle, reprise par Sorensen et Waagpetersen (2003), Ros et al (2004) ainsi que Rönnegard et al (2008), est qu'un pool de gène contrôle le niveau ou la moyenne du caractère et qu'un autre pool contrôle sa variabilité environnementale.
Dans la présente étude nous avons utilisé des modèles homoscédastiques puis hétéroscédastiques pour estimer les paramètres génétiques du poids des œufs dans 3 populations de canard INRAE.

1. MATERIELS ET METHODES

Les protocoles expérimentaux et les soins aux animaux ont été réalisés conformément à la directive européenne 2010/63/UE. L'expérimentation a été menée à l'UEPFG- INRAE (numéro d'accréditation C40-037-1). Les protocoles concernés avaient reçu les agréments ministériels APAFIS#2015092213418825 pour METEPIC et APAFIS#2018013116519672 pour DUCKODAC.

1.1. Données disponibles

Nous avons utilisé les poids des œufs des femelles des lignées I44 (cane commune, utilisée dans le programme METEPIC), PEK77 et BAR11 (respectivement lignées commune et Barbarie, utilisées dans le programme DUCKODAC). Ces femelles étaient hébergées en cages individuelles, ce qui permettait de leur assigner leurs œufs lors de chaque collecte. Contrairement aux I44, en BAR11 et PEK77, les œufs étaient pesés le jour de la ponte, sauf ceux pondus le dimanche qui pouvaient être pesés le lundi. Dans la lignée I44 le délai entre ponte et pesée pouvait dépasser 7 jours et a été enregistré. Les femelles de la lignée BAR11 (n=170) provenaient de deux générations successives (2017 et 2019) et nous avons pesé 9585 œufs. A noter que, pour la génération 2017 et contrairement à la génération 2019, nous avons entrepris la pesée des œufs alors que les femelles avaient subi une mue. Les œufs de ces femelles sont donc logiquement plus lourds que ceux des œufs de la génération suivante (figure 1) mais les modèles prennent en compte cet effet. Pour la lignée I44 nous avons pesé 829 œufs pondus par seulement 52 femelles (27 ayant subi une restriction en méthionine dans l'alimentation et 25 canes témoin). En PEK77, nous disposions de 19431 poids d'œufs, pondus par 201 femelles issues de 2 générations successives (2018 et 2019).
Dans les trois populations les œufs non « incubables » (mous, fêlés, cassés, œufs doubles) ont été exclus de l'analyse.
Les statistiques élémentaires du poids des œufs de chacune des lignées figurent dans le tableau 1.

1.2. Modèles d'analyse

Nous avons d'abord recherché le meilleur modèle d'analyse pour décrire le poids des œufs d'une cane en prenant en compte la nature répétée des performances mesurées à différents points au cours de sa carrière. Différents effets fixes (âge ou numéro de l'œuf dans la série de ponte, génération, nombre d'œufs total de la cane dans la série, interaction âge-génération) ont été testés et le modèle retenu était, pour les canes PEK77 et BAR11 :

$$y_{ij} = \mu + \beta_{age.generation} + p_i + u_i + \epsilon_{ij}$$

Où y_{ij} désigne le poids du $j^{\text{ème}}$ œuf de la cane i, p_i représente l'environnement commun à tous les œufs pondus par la même cane, u_i désigne la valeur génétique de cette cane i et ϵ_{ij} la résiduelle. L'effet « âge-génération », introduit comme effet fixe, permet de rendre compte de l'évolution du poids de l'œuf au cours de la période de ponte propre à chaque génération ou année. Pour les canes I44, les effets fixes étaient l'effet « régime » *(i.e.* carencé ou non en méthionine) et un effet « délai entre le jour de

ramassage et le jour de pesée », tous deux significatifs. La structure de variance est classique.

$$Var\begin{pmatrix}\boldsymbol{u}\\ \boldsymbol{p}\\ \boldsymbol{\epsilon}\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}\mathbf{A}\sigma_u^2 & \mathbf{0} & \mathbf{0}\\ \mathbf{0} & \mathbf{I}_p\sigma_p^2 & \mathbf{0}\\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{I}_n\sigma_\epsilon^2\end{pmatrix}$$

On notera en particulier que ce modèle estime une seule composante pour la variance résiduelle, qui est la même pour toutes les observations. Ce modèle à répétabilité est donc qualifié d'homoscédastique.

Dans un second temps, nous passons à un modèle bicaractère (DHGLM), qui décrit en plus le logarithme de la variance intra cane. Pour ce faire un algorithme itératif (Felleki et al, 2012) est inséré dans l'estimation REML des paramètres, obtenue avec le logiciel asreml4 (Gilmour et al, 2015).

Dans les lignées PEK77 et BAR11, ce modèle est de la forme :

$$\begin{cases} y_{ij} = \mu + \beta_{age.génération_{ij}} + p_i + u_i + \lambda_i\,\varepsilon_{ij} \\ \log(\lambda_i) = \dfrac{\eta + \gamma_{génération} + \alpha \times EN_i + v_i}{2} \end{cases}$$

Où η représente la log-variance moyenne de la population et les ε_{ij} sont des valeurs prises par des variables gaussiennes identiquement distribuées $N(0,1)$ indépendamment de u_i et p_i. $\gamma_{génération}$ représente l'effet fixe de la génération sur la variance et $\alpha \times EN_i$ est la régression sur le nombre total d'œufs pondus par le femelle *i*. Cette régression, qui s'est avérée significative, a été introduite pour rendre compte de la corrélation négative connue entre le nombre d'œufs et le poids moyen de ces derniers (par exemple -0.22 chez la poule pondeuse (Besbes et al, 1992)). v_i représente la valeur génétique sur la variabilité environnementale. Plus cette valeur est élevée et plus la performance est susceptible de présenter une grande variance.

Dans la lignée I44, représentée par une seule génération avec un contrôle de la ponte plus court que dans les deux autres lignées, le modèle sur la variance était $\log(\lambda_i) = \frac{\eta+\gamma_{régime}+\gamma_{délai_pesée}+v_i}{2}$ car il s'est avéré que la carence en méthionine et le délai d'attente affectaient également la variabilité du poids des œufs.

Dans ce modèle, qualifié d'hétéroscédastique car la variance résiduelle n'est pas unique, la structure de variance est la suivante.

$$Var\begin{pmatrix}u\\ v\\ p\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}\begin{pmatrix}\sigma_u^2 & \sigma_{uv}\\ \varrho_{uv}\sigma_u\sigma_v & \sigma_v^2\end{pmatrix} \otimes A & 0\\ 0 & \mathbf{I}_p\sigma_p^2\end{pmatrix}$$

On estime ici une variance animale pour la variabilité environnementale σ_v^2, ainsi que la corrélation ϱ_{uv} entre les effets de la génétique sur la moyenne et sur la variance. Elevée et positive, elle signifie que l'augmentation de la moyenne s'accompagnera d'une augmentation de la variabilité observée. Si, au contraire, elle est négative, il est alors plus facile d'améliorer conjointement la moyenne et l'homogénéité des performances considérées.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les paramètres génétiques sont dans le tableau 2. Compte-tenu du faible effectif considéré, les valeurs associées à la lignée I44 sont estimées avec une erreur standard plus importante que les deux autres populations. On constate en particulier que l'effet d'environnement commun de la cane sur la moyenne des poids d'œufs, estimé avec une faible précision dans le modèle homoscédastique, disparait quand on introduit un effet individuel dans la variation résiduelle. Cet artefact n'est pas observé dans les deux autres lignées, pour lesquelles les erreurs standard sont bien plus faibles. Avec le modèle homoscédastique, les héritabilités obtenues pour le poids de l'œuf sont modérées en PEK77 (h^2=0,27±0,09) et plus élevées en BAR11 (h^2=0,42±0,10) et en I44 (h^2=0,72±0,36).

La variance σ_v^2 est significativement différente de zéro dans chacune des populations considérées. On constate également que l'introduction d'une part individuelle génétique dans la variance résiduelle fait augmenter, dans les trois populations, l'estimation de σ_u^2 *(i.e.* la variance génétique de la moyenne du poids des œufs). Si l'estimation de la variance σ_v^2 peut paraître faible, elle suffit néanmoins à expliquer une large part de la variabilité observée entre les écarts types de poids d'œuf, car l'échelle utilisée est exponentielle. En PEK77 par exemple, les estimations montrent qu'une cane très variable (v_i supérieure à $+2\sigma_v$) présente une valeur génétique pour l'écart-type du poids des œufs 2.28 fois plus élevée que celle d'une cane très peu variable (v_i inférieure à $-2\sigma_v$). Le rapport de ces valeurs génétiques étant en effet égal à $e^{2\sigma_v} = 2.28$. Ces estimations expliquent en grande partie la grande dispersion des écart-types des observations brutes intra cane qui varient de 2,71 à 6,47 soit un rapport de 2.4 entre les extrêmes dans cette population.

Les corrélations ϱ_{uv}obtenues sont très variables d'une population à l'autre et illustrent 3 situations que l'on peut rencontrer en sélection. Dans la lignée BAR11, la corrélation est proche de zéro. Ce qui signifie qu'on peut sélectionner indépendamment sur la moyenne ou sur la variance du poids des œufs sans altérer significativement l'autre caractère. Dans la lignée I44, cette corrélation est négative, et donc favorable si l'on souhaite augmenter la moyenne et l'homogénéité du poids des œufs. En effet réduire la variance résiduelle revient à améliorer l'homogénéité des caractères. Dans la lignée PEK77 enfin, nous avons estimé une corrélation significativement positive entre moyenne et variance. Une telle valeur serait un obstacle si l'on souhaitait augmenter la moyenne et réduire la variance du poids des œufs. Elle est modérée donc l'obstacle n'est pas infranchissable. Cependant il est capital de la prendre en compte, au travers d'une

modélisation adéquate, si l'on souhaite mener de front la sélection sur deux objectifs antagonistes.
Enfin il faut rappeler l'importance de la modélisation de la moyenne avant de s'atteler à la description des effets intervenants dans la variance. En effet on s'intéresse ici à la variance résiduelle, c'est-à-dire après avoir pris en compte les facteurs connus et identifiés d'évolution de la moyenne, tels que, par exemple l'âge des pondeuses. On voit bien, sur la figure 1, l'augmentation du poids des œufs à l'entrée en ponte avec l'âge de la cane. Sélectionner une cane au poids des œufs peu variable ne revient pas à favoriser celle qui n'aura pas suivi cette tendance et n'aurait pondu que des petits œufs. Cela revient plutôt à sélectionner celle dont les poids des œufs ne s'éloignent pas de la courbe d'évolution générale.

CONCLUSION

En utilisant des données expérimentales de poids d'œuf en nombre limité, nous avons mis en évidence l'existence d'une variabilité génétique de la variance environnementale qui peut être interprétée comme une sensibilité plus ou moins grande à des variations environnementales. Si cette variabilité génétique était exploitée elle conduirait à des productions d'œufs plus homogènes.
Les schémas de sélection d'autres espèces, comme la poule pondeuse, utilisent plusieurs mesures sur les œufs, pour lesquelles l'homogénéité est aussi recherchée (notamment les caractéristiques visibles telles que la taille, la couleur et la forme). A notre connaissance, les sélectionneurs n'intègrent pas ces modèles dans leur évaluation de routine. Cette analyse peut fournir des clés pour une première exploration, sachant qu'il faudra prendre en compte la corrélation génétique entre la moyenne et la variance du caractère d'intérêt et d'abord l'estimer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abiola S et al, 2008, Archivos de Zootecnia, (57), 83–6
Besbes B et al, 1992, Genet Sel Evol,(24), 539-552
Cheng TS et al, 1995, Genet Sel Evol, (27),459-472
Felleki M. et al, 2012, Genetics Research, (94), 307-317.
Gilmour A. et al, 2015, In: ASReml User Guide Release 4.1 VSN International Ltd
Lin R. et al, 2016, Poult. Sci, (95), 2514-2519
Niknafs S. et al, 2012, Trop Anim Health Prod.
Rönnegård L. et al, 2010, Genet Sel Evol, 42, 1–10
Ros M. et al, 2004, Genetics, (168), 2089–2097
San Cristobal-Gaudy M. et al, 1998, Genet Sel Evol, (30),423-451
Silva L. et al, 2103, Livest. Sci. (153) 27-32
Sorensen D. et al, 2003, Genetics Research, (82), 207–222.
Wolc A et al, 2011, Brit. Poult. Sci., (52), 537-540

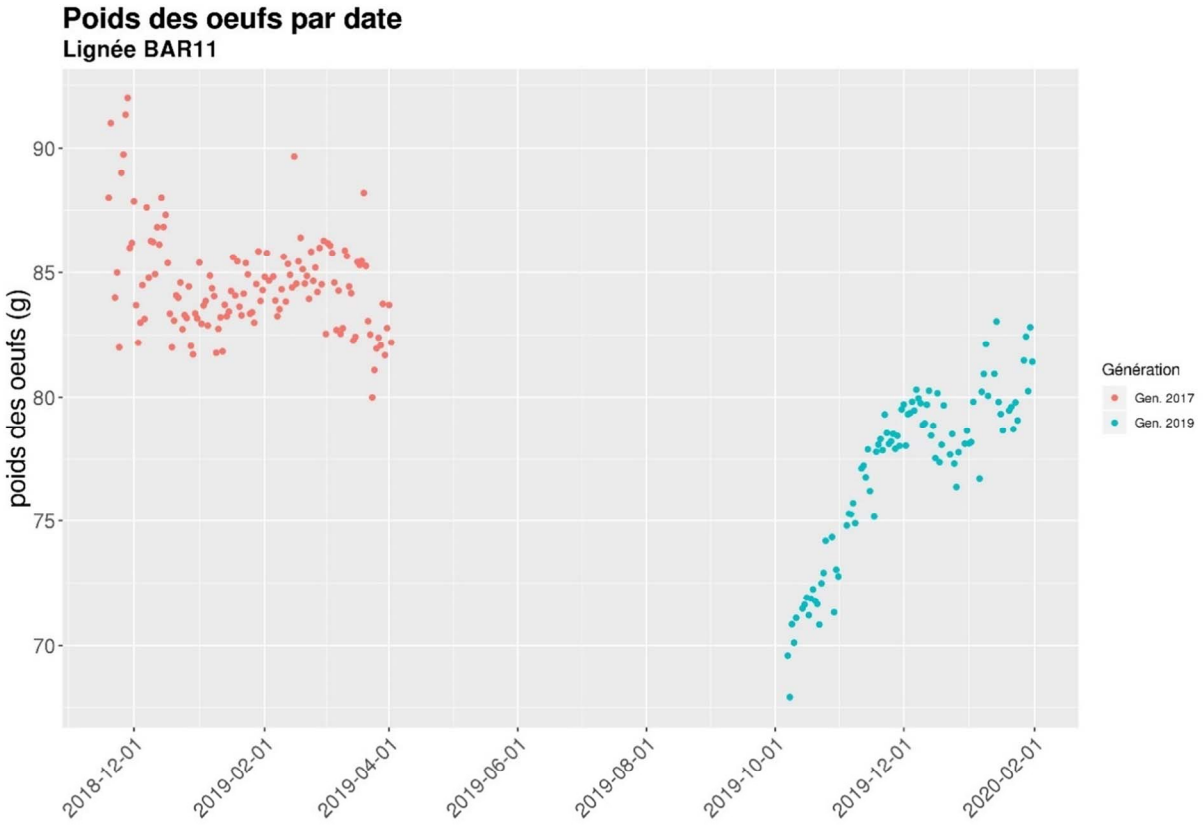
Tableau 1. Statistiques élémentaires du poids des œufs dans 3 populations expérimentales de canard INRAE. PEK77 et I44 sont des lignées de canard commun. BAR11 est une population Barbarie. méd = médiane, moy = moyenne, std = écart-type

population	modalité	effectif		poids des œufs						
		N fem	N œufs	min	1er quart	méd	3ème quart	max	moy	std
I44	régime carencé	27	426	48,5	61,4	65,5	68,6	77,6	64,9	5,2
	régime témoin	25	403	41,9	66,5	70	73,4	85,8	69,7	5,9
PEK77	gen.2018	98	10882	60	79	83	87	107	83,1	5,6
	gen.2019	103	8549	60	75	79	83	99	79	5,6
BAR11	gen.2017	71	4007	55	79	84	89	110	84,2	7,7
	gen.2019	99	5578	55	72	77	81	100	76,6	6,6

Tableau 2. Paramètres génétiques du poids des œufs avec un modèle homoscédastique à répétabilité ou avec un DHGLM, qui décrit également la variabilité résiduelle. σ_p^2 = variance de l'environnement permanent lié à la pondeuse, σ_ϵ^2 = variance résiduelle, σ_u^2 = variance génétique sur la moyenne, σ_v^2 = variance génétique sur la variabilité, ϱ_{uv} = corrélation génétique entre moyenne et variance.

	Modèle homoscédastique à répétabilité					**DHGLM**			
	σ_p^2	σ_u^2	σ_ϵ^2	**h²**	**p²**	σ_p^2	σ_u^2	σ_v^2	ϱ_{uv}
PEK77	7,7±2,2	7,9±3,0	13,8±0,1	0,27±0,09	0,53±0,03	7,8±2,2	8,9±3,0	0,17±0,02	+0,33±0,12
BAR11	5,6±3,7	18,8±5,6	20,4±0,4	0,42±0,10	0,54±0,03	3,1±3,5	23,8±6,0	0,22±0,03	-0,03±0,1
I44	2,4±9,2	21,9±15,8	6,0±0,3	0,72±0,36	0,80±0,05	0,0	25,6±5,9	0,54±0,17	-0,30±0,17

Figure 1. Poids moyen des œufs mesuré dans la lignée BAR11.
En rouge génération 2017, en bleu génération 2019



RECHERCHE DE NOUVEAUX INDICATEURS OU BIOMARQUEURS POUR L'AMELIORATION GENETIQUE DE LA QUALITE DU POUSSIN

Marie-Agnès Bergeot[1], Anne Collin[2], Angélique Travel[3], Eva Pampouille[3], Roland Akakpo[1], Emilie Raynaud[2], Estelle Cailleau-Audouin[2], Christophe Souchet[3], Jérémy Bernard[4], Laurence A. Guilloteau[2], Sonia Metayer-Coustard[2], Elisabeth Le Bihan-Duval[2]

[1]SYSAAF, INRAE, Centre Val-de-Loire, 37380 NOUZILLY, France,
[2]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France,
[3]ITAVI, L'Orfrasière, 37380 NOUZILLY, France,
[4]INRAE, PEAT, 37380 NOUZILLY, France
elisabeth.duval@inrae.fr

RÉSUMÉ
L'amélioration de la qualité du poussin est un des objectifs prioritaires de la filière poulet de chair, en vue d'une limitation du recours aux antibiotiques et d'un meilleur compromis entre production, santé et bien-être des animaux. Cependant, il s'agit d'un caractère complexe qui recouvre des composantes multiples liées au statut métabolique, à l'état physique et au comportement du poussin, ou encore à sa capacité à croître et à faire face au stress pendant les premiers jours de vie. Le rôle de la génétique dans l'établissement de la qualité du poussin et les possibilités d'une amélioration par sélection restent à explorer. Nous avons bénéficié de deux lignées sélectionnées de façon divergente sur le pH ultime de la viande (pHu), un indicateur des réserves énergétiques musculaires, pour évaluer les réponses corrélées à la sélection sur la qualité du poussin et estimer les paramètres génétiques de différents indicateurs et biomarqueurs sanguins mesurés à l'éclosion (J0), le lendemain de l'éclosion après un démarrage challengeant les animaux (J1) et à l'âge de 7 jours (J7). Les mesures sur 321 animaux pedigree de la 15ème génération montrent que la sélection pour une augmentation du pH ultime (lignée pHu+), qui altère les réserves énergétiques musculaires, est associée à une baisse du score visuel de qualité du poussin aux trois stades de mesure. Malgré un poids vif plus élevé à l'éclosion, les poulets de la lignée pHu+ présentent une moindre croissance relative pendant la première semaine d'élevage et un poids à l'abattage plus faible que la lignée pHu-. Au sein de ces lignées, le score de qualité à l'éclosion présente une héritabilité plutôt faible mais une corrélation génétique positive et élevée avec le gain de poids observé entre J1 et J7. De façon intéressante, des indicateurs plasmatiques liés aux capacités anti-oxydantes sont à la fois héritables et reliés génétiquement à la perte de poids au cours du premier jour de vie en conditions challengeantes (J0-J1). Ces premiers résultats montrent l'intérêt d'une approche globale d'évaluation de la qualité du poussin pour la recherche de critères d'intérêt pour la sélection.

ABSTRACT: Towards the search of new indicators and biomarkers for genetic improvement of chick quality. The improvement of chick quality is one of the main objectives of the broiler industry, in view of limiting the use of antibiotics and improving the balance between production, health and animal welfare. However, chick quality is a complex trait, which covers multiple components related to the metabolic status, physical condition and behavior of the chick, or its ability to grow and cope with stress during the first days of life. The role of genetics in the determinism of chick quality and the possibilities of improvement by selection remain to be explored. We took advantage of two divergently selected lines on ultimate meat pH (pHu), a proxy for muscle energy reserves, to evaluate correlated responses to selection on chick quality and to estimate genetic parameters of different indicators and blood biomarkers measured at hatching (D0), the day after hatching after a challenging start (D1) and at 7 days of age (D7). Measurements on 321 pedigree animals of the 15th generation show that selection for an increase in ultimate pH (pHu+ line), which impairs muscle energy reserves, is associated with a decrease in the quality score of the chick at all three stages of measurement. Despite a higher body weight at hatching, birds of the pHu+ line showed a lower relative growth during the first week of rearing and a lower weight at slaughter than the pHu- line. Within these lines, the quality score at hatching shows a rather low heritability but a high positive genetic correlation with the weight gain observed between D1 and D7. Interestingly, plasma indicators related to antioxidant capacities are both heritable and genetically related to weight loss during the first day of life under challenging conditions. These first results show the interest of a global approach of the evaluation of the chick quality for the search of relevant criteria for selection.

INTRODUCTION

La qualité du poussin est un critère particulièrement important pour l'élevage avicole du fait de son rôle déterminant sur la capacité du jeune animal à faire face à des conditions de démarrage parfois perturbées (telles qu'un transport long ou une alimentation retardée), avec des effets à long terme sur la réussite du lot. Les impacts sont à la fois économiques mais également liés à la santé et au bien-être de l'animal. Ainsi, quand il est nécessaire, l'usage d'antibiotiques se concentre principalement sur la première semaine de vie des animaux, âge auquel les fonctions immunitaires sont encore immatures. Cette qualité du poussin recouvre de multiples composantes liées au développement de l'animal (poids, gain de poids…), sa viabilité ou encore son état physique et son comportement évalués au travers de différents indicateurs visuels tels que ceux proposés dans la grille de Tona (Tona et al., 2003). Les statuts métabolique et immunitaire contribuent également à la qualité du poussin, même si ce type d'indicateurs reste encore peu usité en pratique.

Le déterminisme de la qualité du poussin apparaît complexe. Alors que des facteurs liés à l'âge des reproductrices, au temps de stockage des œufs ou aux conditions d'incubation sont déjà bien décrits (pour revue voir Narinc et Aydemir, 2021 et Métayer-Coustard et al., 2022), le rôle de la génétique demeure quant-à-lui peu exploré. L'éclosion étant une étape particulièrement énergivore, le statut métabolique de l'animal en lien avec sa génétique peut donc affecter la qualité du poussin. Le premier objectif de cette étude était de comparer la qualité du poussin, évaluée dans ses différentes composantes, entre deux lignées de poulet de chair sélectionnées de façon divergente sur le pH ultime de la viande, reflet des réserves énergétiques musculaires. Le second objectif était d'évaluer, pour la première fois chez le poulet, le niveau d'héritabilité de différents indicateurs ou biomarqueurs de la qualité ainsi que leurs corrélations génétiques.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif animal

L'essai a porté sur un total de 321 poussins (mâles et femelles) issus de deux lignées divergentes sélectionnées depuis 15 générations sur le pH ultime de la viande, mesuré 24h après abattage dans le muscle pectoral. Cette sélection a été initiée en 2009 à partir d'une lignée grand-parentale de type femelle de poulet de chair standard (Alnahhas et al., 2014). Les œufs à couver ont été collectés à partir d'un total de 100 mères (51 pHu+ et 49 pHu-) âgées de 34-35 semaines (soit 3-4 semaines après le pic de ponte). Les animaux ont subi des conditions de démarrage perturbées avec 30 minutes de transport le jour de l'éclosion (J0) et le lendemain (J1), une attente de 24H dans des boites de transport placées à 25°C, puis une mise en place et une alimentation retardées le lendemain de l'éclosion (à J1).

1.3. Mesures phénotypiques

Une évaluation visuelle de l'état physique et du comportement de l'animal a été réalisée à J0 (en sortie d'éclosoir), à J1 (après le transport et avant la mise en place dans la cellule d'élevage) puis après 7 jours d'élevage (J7), selon une grille de notation adaptée de la grille de Tona. A chaque âge, un total de douze indicateurs a été noté (en lien avec l'état général et l'activité, la présence de lésions, de signes de déshydratation ou d'inflammation, les risques d'infection), puis sommés pour obtenir un score total de qualité sur 110 (Scoretot). Les poids à J0, J1 et J7 ont été mesurés, permettant également de calculer la perte de poids entre J0 et J1 (PerteJ0J1, en % du poids à J0) ou le gain de poids entre J1 et J7 (GainJ1J7, en % du poids à J1). Des dosages plasmatiques ont été réalisés à J7 pour différents indicateurs liés aux statuts métabolique ou antioxydant du poussin (concentrations plasmatiques en glucose, triglycérides, acide urique, et capacité antioxydante totale (TAS)), ou à la présence d'inflammation (activité de type haptoglobine du plasma). A l'issue de la période d'élevage, à 42 jours, le poids à l'abattage, le rendement en filet ainsi que le pH ultime (pHu) de la viande ont également été mesurés.

1.3. Analyses statistiques et estimation des paramètres génétiques

L'effet de la sélection divergente pour le pH ultime sur les phénotypes mesurés à la 15ème génération a été analysé grâce à une ANOVA intégrant les effets de la lignée (pHu+/pHu-), du sexe et de leur interaction. Les différences entre lignées sont basées sur la comparaison des LSMEANS. Les paramètres génétiques (héritabilités et corrélations génétiques) ont été estimés par la méthode du maximum de vraisemblance (REML : Restricted Maximum Likelihood) à l'aide du logiciel VCE6 (Groeneveld et al., 2010). Le modèle intégrait l'effet génétique animal et l'environnement commun maternel (pour les caractères mesurés entre J0 et J7). Concernant les effets fixes, le lot (recodé par génération et lignée) et le sexe ont été inclus, pour les caractères pour lesquels ils étaient pertinents. L'ensemble des données généalogiques disponibles depuis le début de la sélection ont été prises en compte dans l'analyse (soit 23512 animaux) ainsi que les données de pHu,

pourcentage de filet et poids à 42 jours mesurées sur les générations précédentes (voir Tableau 1 pour les effectifs).

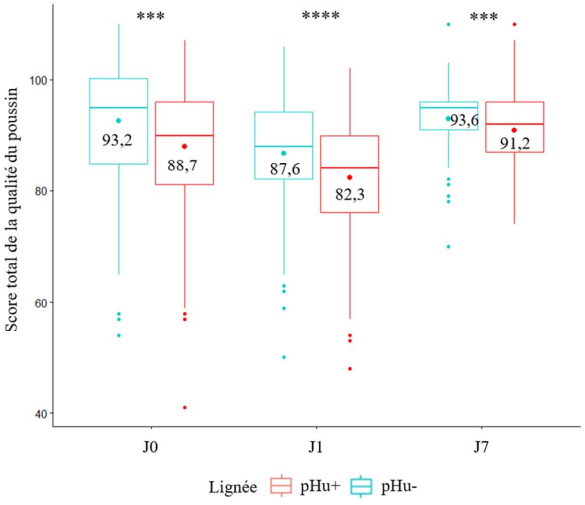
2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Impact de la sélection divergente pour le pH ultime sur la qualité du poussin.

Comme attendu, une forte différence de pH ultime est retrouvée à la 15ème génération entre les deux lignées (6,23 pour la lignée pHu+, 5,59 pour la lignée pHu- ; P<0.0001). Chez le poulet, il existe une très forte corrélation génétique négative (-0,97) entre Potentiel Glycolytique et pH ultime du muscle du filet (Le Bihan-Duval et al., 2008), la lignée pHu+ se caractérisant donc par de plus faibles réserves en glycogène que la lignée pHu-.

Selon des travaux menés à la 8ème génération de sélection, cette différence se met en place précocement, avec une diminution de 12% de la quantité de glycogène du muscle *Pectoralis major* chez les poussins pHu+ par rapport aux pHu- dès l'éclosion, et de 20% à 5 jours post-éclosion (Metayer-Coustard et al., 2021).

Figure 1 : Evolution du score total de qualité (Scoretot) entre J0, J1 et J7 dans les deux lignées. LSMEANS de l'effet lignée, **P*<0.05 ; ***P*<0.01 ; ****P*<0.001 ; ****P<0.0001.

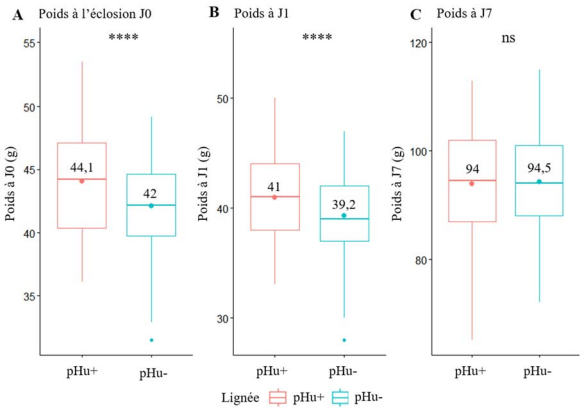


Comme illustré sur la **Figure 1**, cette différence de statut énergétique s'accompagne d'une différence du score visuel de qualité, moins élevé chez les poussins pHu+ que les pHu- sur toute la première semaine de vie. Comme attendu, la courbe de tendance pour les deux lignées va dans le sens d'une diminution du score de qualité entre J0 et J1, suite aux conditions de démarrage perturbées, puis d'une hausse entre J1 et J7, âge auquel on observe une meilleure homogénéité du score de qualité. Notons qu'à l'éclosion, la différence de qualité entre pHu+ et pHu- est plus marquée chez les mâles (7,6 points) que chez les femelles (1,4 point), ces dernières subissant une chute plus importante du score de qualité entre J0 et J1 dans la lignée pHu+ que dans la lignée pHu- (-8,4 vs -5,2). Le gain de qualité entre J1 et J7 est par ailleurs plus important dans la lignée pHu+ que la lignée pHu- (+8,9 vs +6,0 ; P=0.02), la différence entre lignées apparaissant plus modérée à J7 qu'à J0 ou J1. Si l'éclosion apparaît donc comme un évènement particulièrement coûteux en énergie chez les pHu+, dont la qualité est dégradée, ces animaux conservent une capacité de récupération entre J1 et J7.

Une faible mortalité a été observée durant la première semaine de vie (au total 11 animaux dont 9 pHu- et 2 pHu+).

En cohérence avec un poids d'œuf plus élevé, les poussins pHu+ ont un poids légèrement plus important à l'éclosion (+2g ; P<0.0001), ainsi qu'à J1 (**Figure 2**). Aucune différence de poids n'est retrouvée à J7, traduisant une plus faible croissance relative des poussins pHu+, de moindre qualité, que celle des poussins pHu- sur la première semaine (GainJ1J7 de 130% vs 142%, P<0.0001). Une différence de poids en faveur des animaux pHu- est retrouvée à l'abattage, à 42 jours (+100g, P=0.0009).

Figure 2 : Evolution du poids des poussins entre l'éclosion et J7 dans les deux lignées. LSMEANS de l'effet lignée, **P*<0.05 ; ***P*<0.01 ; ****P*<0.001 ; ****P<0.0001.



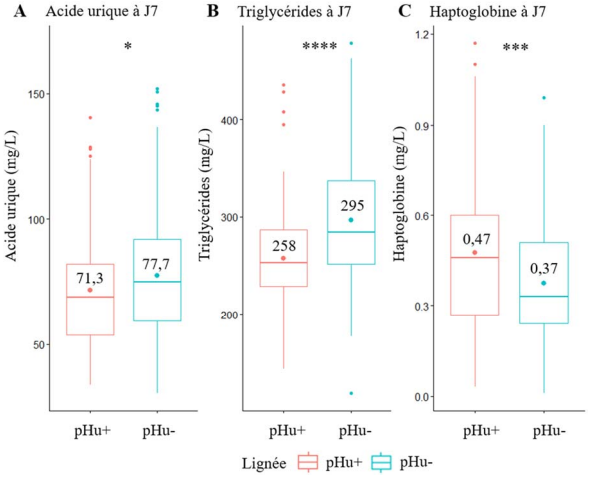
A J7, des différences de marqueurs plasmatiques sont également mises en évidence, avec :

- un taux d'acide urique 9% plus élevé (P=0.04) chez les poussins pHu-, suggérant une capacité anti-oxydante plus importante ou un catabolisme des protéines plus marqué pour accompagner la plus forte croissance de ces animaux pendant la première semaine de vie ;

- une teneur en triglycérides circulants 12,5% plus faible (P<0.0001) chez les animaux pHu+, liée peut-être à une moindre absorption depuis le vitellus ou à une plus forte utilisation des lipides à des fins énergétiques ;

- un taux d'haptoglobine 27% supérieur (P=0.0009) chez les poussins pHu+, potentiel marqueur d'un état inflammatoire.

Figure 3. Variation entre lignées d'indicateurs plasmatiques mesurés à J7. LSMEANS de l'effet lignée, **P*<0.05 ; ***P*<0.01 ; ****P*<0.001 ; ****P<0.0001.



2.2. Paramètres génétiques au sein des lignées pHu

Alors que des différences de qualité entre des génotypes différents ont déjà été reportées, il n'existe pas à ce jour d'estimation de paramètres génétiques de ces indicateurs. Au sein des lignées pHu, bien que faible (0,14), l'héritabilité du score total de qualité du poussin apparaît plus significative à l'éclosion qu'à J1 ou J7, où l'impact des facteurs environnementaux est déterminant (Tableau 1).

Tableau 1. Effectif, héritabilité et part d'environnement commun maternel pour les différents indicateurs et biomarqueurs.

Phénotypes	N	h² (±s.e)	Envcom
SCORETOTJ0	292	0,14 (±0,02)	0,08
SCORETOTJ1	292	0,11 (±0,02)	0,05
SCORETOTJ7	292	0,08 (±0,02)	0,07
POIDSJ0	292	0,41 (±0,02)	0,51
PERTEJ0J1	292	0,12 (±0,02)	0,19
GAINJ1J7	291	0,41 (±0,03)	0,26
ACIDE_URIQUE	264	0,31 (±0,03)	0,02
TAS	265	0,42 (±0,03)	0,02
GLUCOSE	263	0,07 (±0,01)	0,08
HAPTOGLOBINE	260	0,16 (±0,02)	0,02
TRIGLYCERIDES	262	0,10 (±0,02)	0,08
POIDSJ42	9911	0,39 (±0,02)	/
%FILET	6348	0,59 (±0,02)	/
PHUFILET	9547	0,53 (±0,02)	/

On observe pour les variables liées au poids ou variation relative de poids sur la première semaine (POIDSJ0, PERTEJ0J1, GAINJ1J7) des effets maternels importants (part de variance entre 19 et 51%), même si le niveau d'héritabilité reste élevé pour le poids à l'éclosion et le gain de poids entre J1 et J7 (h^2=0,41 dans les deux cas).

Concernant les indicateurs plasmatiques, leur niveau d'héritabilité varie et apparait plutôt faible pour les taux de glucose, de triglycérides et l'haptoglobine (<0,20) mais plus élevé pour l'acide urique et la mesure du TAS, ces deux indicateurs des capacités anti-oxydantes présentant entre eux une forte corrélation génétique (+0,79). L'analyse des corrélations génétiques révèle des relations complexes entre notes d'état corporel, performances et indicateurs physiologiques. On observe notamment une corrélation génétique largement favorable (+0,70) entre le score de qualité à l'éclosion et la croissance relative entre J1 et J7, soulignant l'impact de l'état initial du poussin sur sa capacité à se développer dans les premiers jours. Le poids à l'éclosion influence l'état métabolique à 7 jours, avec une forte corrélation génétique positive avec la glycémie (+0,80) mais négative avec le taux de triglycérides circulants (-0,79). Acide urique et TAS présentent des corrélations génétiques positives avec la perte de poids entre J0 et J1 (rg de 0,70 et 0,49 respectivement), suggérant peut-être la mise en place d'une réponse contre le stress oxydant, en partie contrôlée par la génétique. Cette réponse semble également positivement corrélée avec la qualité du poussin à J7 (rg>0,40), avec des effets positifs à long terme sur le poids et le rendement en filet (rg de 0,40 et 0,61 entre ces deux derniers caractères et le score à J7).

CONCLUSION

Ces travaux suggèrent l'existence d'une base génétique de la qualité du poussin. Dans ces lignées génétiques, l'amenuisement des réserves énergétiques est associé à une dégradation de l'état corporel du poussin à l'éclosion et de sa capacité à croitre dans les premiers jours de vie. A contrario la sélection génétique pour une augmentation de ces réserves a permis d'améliorer la robustesse du poussin. Des premiers résultats intéressants ont été obtenus sur l'héritabilité du score visuel de qualité ou de biomarqueurs de la capacité du poussin à mettre en œuvre des réponses biologiques contre le stress (notamment oxydant). Ils amènent à d'autres études pour préciser sur de plus larges effectifs et dans d'autres lignées le déterminisme génétique de ces différents indicateurs ou biomarqueurs et leur potentiel d'application pour une sélection de la qualité du poussin.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été conduite dans le cadre du projet Cas Dar RT Chick'Tip (n° 1727 - 2018/2021) et réalisée dans le cadre de l'UMT Biologie Intégrative Recherche et Développement (BIRD). Elle a bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture et de l'interprofession poulets de chair (CIPC)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alnahhas N, Berri C, Boulay M, Baéza E, Jégo Y, Baumard Y, Chabault M, Le Bihan-Duval E. 2014. Journal of Animal Science, 92(9): 3816-3824.

Groeneveld E, Kovač M, Mielenz N. Institute of Farm Animal Genetics; Neustadt, Germany: 2010.

Le Bihan-Duval E, Debut M, Berri C M, Sellier N, Sante-Lhoutellier V, Jego Y, Beaumont C, 2008. BMC Genetics, 9: 53.

Métayer-Coustard S, Tesseraud S, Praud C, Royer D, Bordeau T, Coudert E, Cailleau-Audouin E, Godet E, Delaveau J, Le Bihan-Duval E, Berri C. Front Physiol. 2021 Mar 4;12:643580. doi: 10.3389/fphys.2021.643580. PMID: 33746779; PMCID: PMC7969813.

Métayer-Coustard S, Bethuel J-C, Collin A, Le Bihan-Duval E, Puterflam J, Travel A. 14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 09 et 10 mars 2022, Tours, France.

Narinç D, Aydemir E., 2021. World's Poultry Science Journal, 77:2, 313-329, DOI: 10.1080/00439339.2021.1892469

Tona K, Bamelis F, De Ketelaere B, Bruggeman V, Moraes VM, Buyse J, Onagbesan O, Decuypere E., 2003. Poult Sci. May;82(5):736-41. doi: 10.1093/ps/82.5.736. PMID: 1276239

VARIABILITE DE L'ABONDANCE DE CHEMERINE DANS L'ALBUMEN ET DANS LE PLASMA SANGUIN DE DIFFERENTES LIGNEES DE POULES PONDEUSES

Bernardi Ophélie[1], Reverchon Maxime[1], Ramé Christelle[2], Baumard Yannick[3], Dupont Joëlle[2]

[1]SYSAAF – UMR BOA Syndicats des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français – 37380 NOUZILLY
[2]INRAE – UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements – 37380 NOUZILLY
[3]INRAE – Unité Expérimentale du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours UEPEAT, 1295 – 37380 NOUZILLY
ophelie.bernardi@inrae.fr

RÉSUMÉ

L'un des objectifs pour les entreprises de sélection avicoles et les accouveurs est la production de poussins d'un jour viables et robustes. Cependant, la mortalité embryonnaire pouvant atteindre 40 % selon les espèces avicoles représente un problème majeur pour ces entreprises de sélection. Il est donc important d'identifier des indicateurs du développement embryonnaire utilisables en sélection génétique pouvant ainsi améliorer les performances de reproduction. Récemment, il a été montré que la chémérine en tant qu'hormone protéique pourrait avoir un rôle potentiel durant le développement embryonnaire aviaire. Le but de notre étude est d'analyser l'abondance de la chémérine au niveau plasmatique et de l'albumen de l'œuf chez des poules pondeuses expérimentales à un moment du cycle de ponte et d'évaluer sa variabilité pour en faire un potentiel critère de sélection. Ainsi, nous montrons que l'abondance de chémérine plasmatique est variable entre les lignées prélevées au même stade physiologique. Au niveau de l'albumen, la variabilité inter-poule de l'abondance de chémérine dans l'albumen est 2 fois plus importante que celle intra-poule pour une même lignée. Nous observons également différentes concentrations de chémérine dans l'albumen entre poules au même stade de ponte.

ABSTRACT

Variability of chemerin abundance in egg albumen and plasma in hens

One of the breeding companies goal is the production of viable and robust one day-old chicks. However embryo mortality up to 40 % depending of the avian species is a major problem for poultry industry. More knowledge, in order to determine new regulators of a good embryo develpment be used in genetic selection are necessary to improve reproduction. Recently, chemerin, as a protein hormone, has been shown to have a potential role during avian embryo development. The aim of the study is to analyse the abundance of chemerin in egg albumen and plasma in hens and to evaluate variability to make it a potential genetic trait. Thus, we show that the abundance of plasma chemerin is variable between hens at the same physiologcal stage. Concerning the level of chemerin in albumen, the inter-hen variability is 2 fold higher than the intra-hen variability. Different abundances of chemerin are also observed in the albumen between hens at the same stage of laying.

INTRODUCTION

La mortalité embryonnaire reste un problème majeur pour les professionnels de la filière avicole (données internes SYSAAF). Or, la production de poussins d'un jour viables et robustes est nécessaire aux entreprises de sélection avicoles afin de renouveler les cheptels de reproducteurs parentaux. Il est donc important de rechercher des perspectives d'amélioration notamment l'investigation de biomarqueurs du développement embryonnaire qui seront d'une part utilisables en sélection génétique et d'autre part pour améliorer les performances de reproduction. Pour qu'un biomarqueur soit un critère de sélection, il doit être facilement mesurable à haut débit, peu couteux, fiable et héritable à la descendance. Cet indicateur doit être également stable chez un même individu et variable au sein du cheptel.
Dans notre étude, nous avons envisagé la chémérine comme potentiel critère de sélection chez l'espèce aviaire.

La chémérine, également appelée TIG2 (tazarotene-induced gene 2) ou RARRES2 (retinoic acid receptor responder 2) est une hormone produite principalement par le foie et également par le tissu adipeux, les cellules immunitaires et reproductives (Mattern *et al.,* 2014). Ainsi, elle se retrouve impliquée dans plusieurs processus physiologiques tels que la régulation de l'homéostasie, du système immunitaire, du métabolisme, l'angiogenèse et dans la fonction de reproduction (Bernardi *et al*., 2021). Après plusieurs clivages successifs, la forme active de la chémérine est capable de se lier à son principal récepteur transmembranaires CMKLR1 (chemokine-like receptor 1) mais aussi GPR1 (G protein receptor 1) et CCRL2 (C-C chemokine receptor-like 2). Ces trois récepteurs sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires. (Marchese *et al.,* 1994).
Chez les mammifères, les concentrations de chémérine dans le plasma sont positivement corrélées avec les niveaux de graisse corporelle, du glucose, des triglycérides et des lipides (Bozaoglu *et al.,* 2007) à l'inverse de la dinde (Diot *et al.,* 2015) et du poulet (Mellouk *et al.,* 2018). On retrouve le système chémérine impliqué dans la fonction de reproduction chez les mammifères avec une expression au niveau ovarien tel qu'une inhibition de la stéroïdogenèse dans les cellules granulosa (Reverchon *et al.,* 2012). La chémérine a également un impact négatif sur la maturation et la motilité du spermatozoïde (Elfassy et *al.,* 2018). Chez les espèces aviaires, la concentration plasmatique de chémérine est négativement corrélée avec l'éclosabilité et la qualité des œufs (Mellouk *et al.,* 2018). A l'inverse des mammifères, la chémérine et ses récepteurs sont plus exprimés dans les cellules de la thèque chez la dinde (Mellouk *et al.,* 2018). Notre laboratoire a montré la présence de chémérine au sein du tractus reproducteur avec une forte expression génique et protéique au niveau du magnum, lieu où se forme l'albumen, par rapport aux autres compartiments. Ainsi, nous la retrouvons en forte concentration dans l'albumen et les membranes vitellines de l'œuf (Estienne *et al.,* 2021). Des analyses protéomiques ont identifié TIG2/RARRES2 dans le blanc (Mann *et al.,* 2007) et les membranes vitellines d'œufs de poule (Mann *et al.,* 2008). Il reste à déterminer maintenant si la chémérine au niveau de l'albumen peut être un bon marqueur pour accroitre les performances de reproduction des espèces aviaires.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et collecte d'échantillons

L'étude a porté sur sept lignées expérimentales de poules pondeuses. Les animaux ont été élevés à l'unité expérimentale de Tours (UEPEAT, Nouzilly). Les lignées R+ et R- différaient sur la fraction résiduelle de la consommation alimentaire (Bordas *et al.,* 1984). La lignée Fayoumi est l'espèce la plus proche de la poule ancestrale et elle est résistante à la coccidiose (Bacciu *et al.,* 2014). La lignée DwNa se caractérise par des poules porteuses du gène du nanisme. La lignée OD présente des ovulations multiples. La lignée Cheptel1 est à l'origine du variant « crête en pois ». Enfin la lignée Gavora est dépourvue de gènes viraux endogènes (Inrae Productions).
Chaque lignée comptait 10 poules et se trouvaient en fin de période de ponte.

Les œufs ont été collectés quotidiennement durant une semaine afin de peser l'œuf, son jaune et son albumen. Environ 2 ml d'albumen ont été collectés par œuf et stockés à -20°C pour des analyses ultérieures. A la fin de la semaine de ponte, les animaux ont été abattus afin de prélever des échantillons de sang dans des tubes héparine et des échantillons du tractus reproducteur par dissection. Le plasma a été récupéré après centrifugation (5000 g pendant 10 min) puis stocké à -20°C avant utilisation.

1.2. Western-Blot

Les échantillons de blancs d'œufs ont été lysés à l'aide d'Ultraturax dans un tampon de lyse (Tris 1 M (pH 7.4), NaCl 0.15 M, EDTA 1.3 mM, EGTA 1 mM, VO43-23 mM, NaF 0.1 M, NH2PO4 1%, Triton 0.5%). La concentration en protéine des lysats a été mesurée par BCA *protein assay* afin d'avoir au final 80 µg de protéine qui ont été dénaturées avec du tampon Laemmli buffer 5X pendant 5 min à 95°C.
Les protéines ont été chargées dans un gel d'électrophorèse (15% pour un poids de protéine <20kDa). Puis, elles ont été transférées sur une

membrane de nitrocellulose. Les membranes ont été bloquées avec 5% de lait dans du TBS-Tween 20 pendant 30 min à température ambiante. Ensuite, les membranes ont été incubées avec l'anticorps primaire chémérine pendant une nuit à 4°C. Après rinçages, les membranes ont été incubées avec l'anticorps secondaire anti-souris pendant 90 min à température ambiante. La protéine d'intérêt a été détectée avec G-box SynGene et le logiciel GeneSnap. Enfin, les protéines ont été quantifiées avec le logiciel GeneTools. Les résultats ont été exprimés en fonction de l'intensité du signal après normalisation avec l'ensemble de la quantité de protéines déposées déterminées après coloration de la membrane au rouge ponceau. Les protéines des échantillons de plasma sanguin ont été dosés par BCA puis analysés par la technique de Western Blot comme décrit pour les échantillons d'albumen d'œufs.

1.3. Analyses statistiques

Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne ± SEM. Les données des poids des œufs, des ratios blanc/jaune, de ponte et de fertilité ont été analysées au moyen de test One-Way ANOVA. Un test t de Student a été réalisé pour comparer l'abondance plasmatique de chémérine entre les lignées. Enfin, un test One-Way ANOVA a été réalisé pour comparer les moyennes d'abondances de chémérine dans l'albumen entre les poules d'une lignée. Le logiciel GraphPad Prism 6 a été utilisé pour réaliser les tests statistiques.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Caractéristiques des lignées

Tout d'abord, nous observons que les lignées se discriminent sur le poids des œufs, le ratio blanc/jaune, le pourcentage de ponte et d'éclosabilité. Pour chacune de ces quatre caractéristiques, la lignée Fayoumi présentait les taux les plus faibles (Figure 1 A, B, D et E). Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la lignée Fayoumi est la lignée la plus proche de l'espèce ancestrale.
Cependant, le pourcentage de fertilité ne diffère pas entre les lignées (Figure 1C).

1.2. Chémérine plasmatique

L'ensemble des échantillons de plasma de chaque poule ont été comparés à la lignée Fayoumi, la lignée la plus proche de la lignée ancestrale. Les résultats montrent que la lignée Fayoumi a une abondance de chémérine plasmatique significativement plus faible que les lignées OD ($p=0,0009$), Gavora ($p=0,0387$) et DwNa ($p=0,0461$) et inversement par rapport à la lignée Cheptel1 ($p=0,0094$). Entre les lignées R+ et R-, aucune différence sur l'abondance plasmatique de chémérine n'a été mise en évidence ($p>0,05$) (Tableau 1).

1.2. Chémérine dans l'albumen

Pour chacune des poules, nous avons quantifié l'abondance de chémérine dans l'albumen dans 3 à 5 œufs pondus successivement. Puis, nous avons comparé les poules entre elles. Cela a été réalisé pour chacune des lignées.
Au sein d'une même lignée, nous observons différents profils d'abondance de chémérine dans l'albumen avec des poules qui présentent des taux élevés, moyens et bas de chémérine dans leurs œufs. Cela est appuyé par un coefficient de variabilité inter-poule allant de 50% à 116% en fonction de la lignée. Tandis que pour une même poule, l'abondance de chémérine dans ses œufs successifs semblent assez homogène (coefficient de variabilité intra-poule de 23% à 50% en fonction de la lignée) (Tableau 2). Il est intéressant de noter que nous observons une plus forte variabilité au sein de la population comparée à la variabilité individuelle (Tableau 2).

Il semble que cette adipo/hépatokine soit importante durant le développement embryonnaire précoce mais il reste encore à éclaircir son rôle majeur. Il a déjà été montré son rôle négatif sur la maturation *in vitro* des ovocytes chez l'espèce bovine (Reverchon *et al.,* 2014). De plus, au sein du laboratoire nous avons démontré sa présence au sein des annexes embryonnaires et son rôle dans l'angiogenèse durant le développement embryonnaire chez *Gallus gallus.* La chémérine est présente au sein des fluides embryonnaires tels que le liquide amniotique et le liquide allantoïque durant la période d'incubation. Egalement, il a été montré son rôle pro-angiogénique et anti-bactérien durant le développement embryonnaire (Estienne *et al.,* 2021).

CONCLUSION

L'ensemble de ces résultats suggère que la chémérine dans le blanc de l'œuf pourrait être un critère candidat utilisable en sélection génétique. Cependant, aucun paramètre de reproduction (% de ponte, fertilité et éclosabilité) n'était corrélé avec l'abondance de chémérine plasmatique et dans l'albumen. Nous avons également montré aucune corrélation entre l'abondance de chémérine plasmatique et de chémérine dans l'albumen des œufs suggérant un lieu de production local de la chémérine dans le magnum distinct de la circulation sanguine (données non présentées ici). Cependant, le nombre d'animaux (n=10 pour chaque lignée) est très faible pouvant expliquer ces résultats négatifs. Les dosages ELISA de la chémérine dans ces échantillons et à la

descendance sont en cours d'analyse afin de confirmer ces résultats. L'ensemble de ces résultats renforce le rôle potentiel de la chémérine durant le développement embryonnaire des oiseaux.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé en partie grâce au pôle d'expérimentation avicole de Tours (PEAT, Nouzilly) et grâce à Michèle Tixier-Boichard et Tatiana Zerjal pour le développement de ces lignées expérimentales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bacciu N., 2014. Genectics Selection Evolution., 46:14
Bernardi O., 2021. Mol Cell Endocrinol., (534) 111370
Bordas A., 1984. Annales *Agriculturae Fenniae* 233-237
Bozaoglu K., 2007. Endocrinology, (148), 4687-4694
Diot M., 2015. Reprod Biol Endocrinol., (13) p. 81
Elfassy Y., 2018. Int J Endocrinol., 3906490
Estienne E., 2021. *En cours de soumission*
Mann K., 2007. Proteomics, (7), 3558-3568
Mann K., 2008. Proteomics, (8), 2322-2332
Marchese A., 1994. Biochem Biophys Res Commun, (205) pp. 1952-1958
Mattern A., 2014. IUBMB Life, (2014), pp. 19-26
Mellouk N., 2018. Reproduction., (155) pp. 321-331
Reverchon M., 2012. Hum Reprod., (27), pp. 1790-1800
Reverchon M., 2014. Biol Reprod., (90), p. 102

Figure 1. Performances de reproduction de différentes lignées de poules pondeuses expérimentales (moyenne ± SEM)

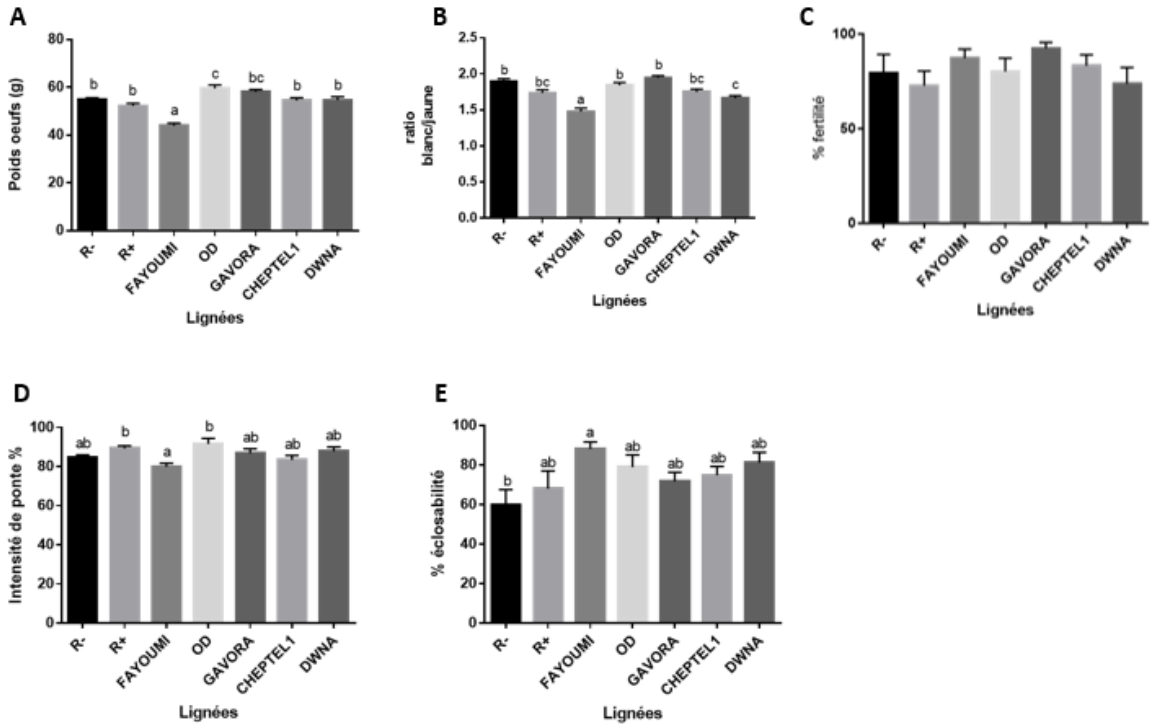


Tableau 1. Abondance de chémérine dans le plasma de différentes lignées de poules pondeuses expérimentales (moyenne ± SEM)

Comparaison lignées	Abondance chémérine plasmatique (ratio chem/ponceau)	p-value
R- *versus* R+	0,039 ± 0,007 *versus* 0,031 ± 0,004	0,3985
Fayoumi *versus* OD	0,022 ± 0,002 *versus* 0,044 ± 0,004	**0,0009**
Fayoumi *versus* Gavora	0,018 ± 0,001 *versus* 0,027 ± 0,003	**0,0387**
Fayoumi *versus* DwNa	0,015 ± 0,001 *versus* 0,024 ± 0,003	**0,0461**
Fayoumi *versus* Cheptel1	0,061 ± 0,007 *versus* 0,035 ± 0,004	**0,0094**

Tableau 2. Abondance (moyenne ± SEM) et variabilité (%) de chémérine dans l'albumen de différentes lignées de poules pondeuses expérimentales

Lignées	Abondance chémérine albumen (ratio chem/ponceau)	Variabilité inter-poule (%)	Variabilité intra-poule (%)
R-	0,011 ± 0,002	67,20	52,88
R+	0,034 ± 0,005	54,73	42,28
Fayoumi	0,021 ± 0,004	71,22	36,47
OD	0,017 ± 0,004	73,73	33,58
Gavora	0,009 ± 0,003	102,54	47,57
Cheptel1	0,007 ± 0,003	116,61	41,01
DwNa	0,034 ± 0,006	49,27	23,76

LA CHEMERINE : UN MARQUEUR POTENTIEL DE DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET D'ECLOSABILITE CHEZ LA POULE FAISANE (*PHASIANUS COLCHICUS*) ?

Estienne Anthony[1], Reverchon Maxime[2], Tricoire Serge[3], Ramé Christelle[1], Froment Pascal[1], Dupont Joëlle[1]

[1] CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, Nouzilly,
[2] SYSAAF-Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français, Centre INRA Val de Loire, F-37380, Nouzilly,
[3] Gibo'Vendée, Chambretaud,
Joelle.dupont@inrae.fr

RÉSUMÉ
La chémérine est une hormone produite majoritairement par le tissu adipeux et le foie. Nous avons montré qu'elle est produite aussi localement dans le tractus reproducteur chez la poule, notamment au niveau du magnum, conduisant à son accumulation dans l'albumen des œufs. Nous avons aussi déterminé qu'elle était nécessaire au bon développement de l'embryon et à l'angiogenèse de la membrane chorio-allantoique. Ce rôle majeur chez la poule suggère que la chémérine, largement conservée entre les espèces, pourrait être utilisée comme marqueur prédictif de la fertilité des œufs chez les gallinacés en général. Pour démontrer cela, nous avons utilisé un modèle proche de la poule : le faisan. Nous avons observé que la chémérine et ses trois récepteurs CMKLR1, GPR1 et CCRL2 s'exprimaient dans le tractus reproducteur des femelles. De plus, la chémérine est aussi produite de manière majoritaire dans le magnum et elle s'accumule dans l'albumen des œufs. Nous avons comparé ensuite deux lignées de faisans présentant différents paramètres de reproduction : les F11 et F22. Les F22 pondent plus d'œufs que les F11, mais présentent des taux de fertilité et d'éclosabilité significativement plus faibles. De plus, les F22 présentent une quantité significativement plus faible de chémérine dans leur magnum comparé aux F11 ($p<0,01$), ainsi que des concentrations plus faibles en chémérine dans l'albumen des œufs ($p<0,0001$). Enfin, nous avons observé une corrélation positive entre la concentration en chémérine dans l'albumen des œufs des F11 et le taux d'éclosion des œufs ($r=0,5$; $p=0,04$) ainsi qu'une corrélation négative entre la concentration en chémérine dans l'albumen des œufs des F22 et le taux d'œufs non fertilisés ($r=-0,37$; $p=0,04$). Ces données mettent en évidence une conservation inter-espèce de la production de chémérine dans le magnum, son accumulation dans l'albumen des œufs et sa possible utilisation comme marqueur prédictif pour la détermination de la qualité des œufs en termes de fertilité.

ABSTRACT
Chemerin: a potential marker of fertility in pheasant (*Phasianus colchicus*)?
Chemerin is a hormone produced mainly by adipose tissue and liver. We have shown that it is locally produced in the reproductive tract in hens, particularly at the magnum level, leading to its accumulation in the egg albumen. We have also determined that it is necessary for the proper development of the embryo and the angiogenesis within the chorio-allantoic membrane. This major role in hens suggests that chemerin, widely conserved between species, could be used as a predictive marker of egg fertility in gallinacea in general. To demonstrate this, we used a model close to the hen: the pheasant. We have shown that chemerin and its three receptors CMKLR1, GPR1 and CCRL2 are expressed in the reproductive tract of females. In addition, chemerin is also produced predominantly in the magnum and accumulates in the egg albumen. We then compared two lines of pheasants with different reproductive characteristics: the F11 and F22. F22 lay more eggs than F11, but have significantly lower fertility and hatchability rates. In addition, F22 exhibits a significantly lower amount of chemerin in their magnum compared to F11 ($p <0.01$), as well as lower chemerin concentrations in egg albumen ($p <0.0001$). Finally, we observed a positive correlation between the chemerin concentration in the albumen of F11 eggs and the hatching rate of the eggs ($r2 = 0.5$; $p = 0.04$) as well as a negative correlation between the chemerin concentration in the albumen of F22 eggs and the rate of unfertilized eggs ($r2 = -0.37$; $p = 0.04$). These data demonstrate an interspecies conservation of chemerin production in the magnum, its accumulation in the egg albumen and its possible use as a predictive marker for determining the quality of eggs in term of fertility.

INTRODUCTION

Le foie et le tissu adipeux peuvent être considérés comme des organes endocriniens car ils sont capables de produire des hormones qui peuvent influencer des fonctions biologiques telles que la reproduction. La chémérine est l'une de ces hormones appelées adipo/hépatokine et est impliquée dans l'inflammation, l'angiogenèse, l'homéostasie, etc… Sa synthèse est assez ubiquitaire mais sa production locale peut varier selon l'organe ou le tissu considéré. La chémérine exerce ses principales fonctions biologiques en se liant à son principal récepteur couplé aux protéines G, le récepteur chemokine-like receptor 1 (CMKLR1) (1) ainsi qu' à deux autres récepteurs qui sont GPR1 (récepteur couplé aux protéines G1) et CCRL2 (CC motif chemokine receptor like 2) (1).
Chez les oiseaux, peu de données sont disponibles sur le rôle de la chémérine dans le métabolisme et la reproduction (2). Chez les dindes, l'ARNm de la chémérine se trouve principalement dans le foie par rapport au cœur et aux muscles, tandis que les ARNm de CMKLR1 et GPR1 sont ubiquitaires (3). La chémérine, CMKLR1 et GPR1 de poulet, ont une identité d'acides aminés de 36 %, 56 % et 64 % avec la chémérine humaine et ses récepteurs, respectivement (4). Cette hormone est également impliquée dans la reproduction des oiseaux. En effet, chez le coq, notre laboratoire a déterminé qu'elle est produite au niveau local dans l'appareil reproducteur mâle, influence négativement la stéroïdogenèse testiculaire et la motilité des spermatozoïdes et altère la fertilité des œufs (5). Chez la femelle, il semble que les concentrations plasmatiques de chémérine soient négativement corrélées avec l'éclosabilité des œufs, suggérant un rôle potentiel de cette protéine sur le développement embryonnaire (6). Chez la dinde, la chémérine est exprimée par les cellules de la granulosa et augmente dans le follicule mature avant l'ovulation, influençant ainsi potentiellement le développement embryonnaire précoce (3). Enfin, nos derniers résultats chez le poulet ont démontré que la chémérine est sécrétée localement par le magnum de l'appareil reproducteur de la poule et s'accumule dans le blanc d'œuf où elle pourrait influencer positivement le développement de l'embryon en favorisant l'angiogenèse et les défenses antibactériennes (Estienne et al 2021 soumis). La similarité entre la chémérine du poulet (*Gallus gallus domesticus*) et celle du faisan (*Phasianus colchicus*), ces deux espèces appartenant à la famille des gallinacés, est très élevée avec 98% d'identité. Ayant développé des outils moléculaires (anticorps et protéines recombinantes) spécifiquement pour l'étude du poulet, nous avons pu mener des investigations similaires dans différentes lignées de faisans. En effet, nous avons profité du fait que le faisan est une espèce de gibier très élevée dans le monde et que sa sélection fine par les élevages, en fonction de son comportement ou de ses capacités de reproduction, a conduit à l'apparition de différentes lignées aux caractéristiques spécifiques. De plus, même chez cette espèce, le métabolisme et la nutrition peuvent avoir une énorme influence sur la reproduction chez la femelle (7, 8). Nous avons à notre disposition deux lignées de faisans, présentant des capacités de reproduction différentes. Notre hypothèse est que la domestication et la sélection, basées sur les performances de reproduction, ont un impact sur l'expression de la chémérine et que cette protéine pourrait partiellement jouer un rôle dans le développement embryonnaire du faisan, comme chez la poule. Ainsi, le but de cette étude était d'étudier l'effet de la sélection domestique sur les paramètres de reproduction, liés à l'expression de la chémérine au sein de l'appareil reproducteur femelle, son accumulation dans les œufs et son effet sur le développement embryonnaire de ces deux lignées de faisans.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux. Trente poules faisanes de la lignée F11 et trente poules faisanes de la lignée F22 (*Phasianus colchicus*) de Gibo'Vendée (Chambretaud, France) ont été étudiées pendant la période de ponte en 2019 et 2020. Les animaux ont été élevés dans les installations d'élevage de Gibo'Vendée (Chambretaud, France) selon les conditions traditionnelles d'élevage : 14h de lumière par jour à l'arrivée, suivi d'une diminution progressive jusqu'à atteindre 8 h de lumière par jour au moment de la ponte (semaine 26), puis une augmentation jusqu'à atteindre 15 h de lumière par jour à la fin de l'étude (semaine 36). Toutes les données sur les paramètres de reproduction ont été enregistrées et fournies par l'éleveur (Gibo'Vendée, Chambretaud, France).

1.2. Echantillons biologiques. Pendant le pic de ponte, les œufs ont été collectés quotidiennement et stockés dans une pièce à 15-16 °C et 80-85% d'humidité pendant une semaine avant le prélèvement des échantillons. L'albumen (1ml) a été collecté et stocké à -20°C avant utilisation. Les échantillons biologiques ont été collectés lors de l'abattage des animaux en vue de la commercialisation de leur viande. Des échantillons de sang ont été collectés après l'abattage dans des tubes d'héparine et le plasma a été récupéré après centrifugation (5000 g pendant 10 min à 4°C) puis stocké à -20°C jusqu'à utilisation. Des échantillons du tractus reproducteur ont été prélevés (infundibulum, magnum, isthme, utérus et vagin) par dissection après abattage des animaux. Les échantillons ont été conservés à -80°C avant utilisation.

1.3. Mesure de l'expression des gènes du système chémérine dans le tractus reproducteur. L'ARN total a été extrait de l'infundibulum, du magnum, de l'isthme, de l'utérus et du vagin (6 animaux par stade) par homogénéisation de 100 mg de tissu dans le réactif tampon de lyse d'un kit d'extraction d'ARN total selon les recommandations du fabricant (NucleoSpin RNAMacherey-Nagel). L'ADNc a été obtenu par transcription inverse comme décrit par Mellouk et al., 2018 (6). L'expression de 4 gènes majeurs a été étudiée, la chémérine, CMKLR1, GPR1 et CCRL2. Les niveaux d'expression d'ARN messager ont été normalisés à trois gènes de référence (β-Actine, GAPDH et EEF1a). Pour chaque gène, l'abondance relative de transcription a été déterminée par le calcul de e^{-Ct}, puis l'expression relative du gène d'intérêt est rapportée à l'expression relative du gène de référence.

1.4. Mesure des quantités protéiques. Les tissus de l'infundibulum, du magnum, de l'isthme, de l'utérus et du vagin de 6 animaux de la lignée F11 et 12 échantillons de magnum des lignées F11 et F22 ont été lysés à l'aide d'un Ultraturax (Invitrogen™ by Life Technologies™, Villebon sur Yvette, France) dans un tampon de lyse préparé au laboratoire (Tris 1 M (pH 7.4), NaCl 0.15 M, EDTA 1.3 mM, EGTA 1 mM, VO43−23 mM, NaF 0.1 M, NH2PO41%, Triton 0.5%). Les protéines du lysat (80 µg) ont été dénaturées avec du tampon Laemmli 5 X puis ont été chargées dans un gel d'électrophorèse en présence de sodium dodécylsulfate sur gel de polyacrylamide. Ensuite, les protéines ont été transférées sur une membrane de nitrocellulose (0.45µm). Les membranes ont été incubées pendant une nuit à 4°C avec l'anticorps primaire approprié (anticorps monoclonal anti-chémérine de poule testé et décrit dans (6), dilution 1/1000 dans du tampon Tris-Phosphate Saline + 0.05% de Tween et 5% de lait en poudre). Ensuite, les membranes ont été incubées 90 min à température ambiante avec un anticorps secondaire anti-mouse couplé à une Horse Radish Peroxydase (Interchim, UP756690, dilution 1/50000 dans du tampon Tris-Phosphate Saline + 0.05% de Tween et 5% de lait en poudre) afin que les protéines d'intérêt soient détectées par chemiluminescence (Western Lightning Plus-ECL, Perkin Elmer, Villebon-sur-Yvette, France) avec une G-box SynGene (Ozyme, St Quentin en Yvelines, France) et le logiciel GeneSnap (Ozyme, St Quentin en Yvelines, France). Ensuite, les protéines ont été quantifiées avec le logiciel GeneTools. Les résultats sont exprimés sous forme de signal d'intensité en unités arbitraires après normalisation par rapport à une protéine ubiquitaire, la vinculine. Les quantités de de chémérine dans le plasma sanguin (n = 60) ont également été obtenues en utilisant la technique de western blot.

1.4. Analyses statistiques. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SEM avec un niveau de significativité inférieur à 0,05. Un test de Student a été utilisé pour comparer les groupes et un test One-Way ANOVA avec un post-test de Tukey pour la comparaison des différents tissus. Le logiciel GraphPad Prism 6 a été utilisé pour les tests.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les données morphométriques des faisans F11 (n=30) et F22 (n=30) et les mesures obtenues sur leurs œufs respectifs sont résumées dans la figure 1. Nous n'avons pas observé de différences significatives entre les poids des femelles, des œufs, de l'albumen et du jaune, respectivement, entre les deux lignées (Figure 1A, B, C et D). Cependant, nous avons montré un nombre d'œufs par femelle significativement plus élevé pendant la période de ponte dans la lignée F22 par rapport à la lignée F11 (p=0,044) (Figure 1E). Concernant les paramètres de reproduction, nous avons trouvé un taux de fertilité (œufs fertiles/œufs incubés x100) (Figure 1F), un taux d'éclosabilité (œufs éclos/œufs fertiles x100) (Figure 1G) et taux d'œufs éclos/œufs incubés (Figure 1H) significativement plus élevés dans la lignée F11 par rapport à la lignée F22. Lorsque nous nous sommes concentrés sur la concentration de chémérine dans le plasma sanguin, nous n'avons trouvé aucune différence significative entre les deux lignées (données non présentées). Par analyse qPCR dans la lignée F11 uniquement, nous avons trouvé que la *chémérine* est exprimée par les différentes parties de l'appareil reproducteur chez les faisanes, sans variations significatives entre l'infundibulum, le magnum, l'isthme, l'utérus et le vagin dû à une grande hétérogénéité des résultats (Tableau 1). Des résultats similaires ont été obtenus pour CMKLR1 et CCRL2 (données non présentées). Cependant, les résultats ont montré une augmentation significative de l'expression de GPR1 dans l'utérus par rapport aux autres parties de l'appareil reproducteur (Tableau 1). Ensuite, nous avons comparé l'expression des mêmes gènes entre les magnums des lignées F11 et F22. Là encore, nous n'avons trouvé aucune différence d'expression entre les magnums F11 et F22 pour la chémérine, CMKLR1, GPR1 et CCRL2 (données non présentées).

Cependant, en se concentrant sur l'expression de la protéine chémérine, l'analyse par western-blotting a mis en évidence une augmentation significative de la quantité de protéines dans le magnum par rapport aux autres parties de l'appareil reproducteur (Tableau 1). Nous avons décidé d'aller plus loin en comparant la quantité de protéines de chémérine dans le magnum des deux lignées et avons constaté que les poules faisanes F22 présentent significativement moins de chémérine dans leur magnum par rapport aux poules F11 (Tableau 2). Nous avons également obtenu un résultat similaire pour la quantité de chémérine dans

l'albumen des œufs des deux lignées avec une quantité de chémérine réduite dans l'albumen des œufs des poules faisanes F22 comparés aux poules faisanes F11 (Tableau 2). Enfin, nous avons observé des corrélations intéressantes entre la quantité de chémérine dans le plasma sanguin, dans l'albumen ou dans le magnum et les paramètres de reproduction obtenus chez les deux lignées. En effet, nous avons montré une corrélation négative entre la chémérine du plasma sanguin chez la lignée F11 et l'éclosabilité des œufs ($r=-0,48$, $p<0,05$) mais pas chez la lignée F22. Nous avons également observé une corrélation positive entre la chémérine de l'albumen chez la lignée F11 et le taux d'œufs éclos ($r=0,5$; $p<0,05$). En revanche, nous avons noté des corrélations négatives entre la chémérine de l'albumen de la lignée F22 et le taux d'œufs infertiles ($r=-0,37$; $p<0,05$).

L'implication de la chémérine dans la fonction de reproduction, tant chez le mâle que chez la femelle, est bien connue chez les mammifères (9). Mais jusqu'à présent, il existe peu de données sur son implication dans la reproduction des oiseaux. Notre laboratoire a déjà obtenu des résultats intéressants sur des espèces d'oiseaux d'intérêt agronomique (3,5,6). Chez la poule, les concentrations plasmatiques de chémérine sont négativement corrélées avec l'éclosabilité des œufs, suggérant un rôle potentiel de cette adipo/hépatokine sur l'œuf (6). Nous avons observé le même résultat dans notre présente étude chez la faisane avec une corrélation négative entre la chémérine plasmatique de la lignée F11 et l'éclosabilité des œufs ($r=-0,48$; $p<0,05$). Plus récemment, une étude a montré que chez la poule, la chémérine est exprimée localement au sein du magnum (Estienne et al 2021 soumis). Le magnum est la région de l'oviducte aviaire où se produisent la synthèse et la sécrétion de l'albumen de l'œuf (10). La sécrétion a normalement lieu environ 0,6 à 4 heures après la ponte précédente, lorsque le jaune passe le long du magnum. Les données ont montré que la chémérine est également exprimée par le magnum lors de la sécrétion d'ovalbumine, s'accumule dans l'albumen de l'œuf et joue un rôle important lors du développement de l'embryon (Estienne et al 2021 soumis). Nos résultats obtenus chez le faisan indiquent que dans cette espèce également, la chémérine est produite de manière majoritaire par le magnum et s'accumule dans l'albumen. De plus, cette production locale au niveau du tractus est significativement plus importante dans la lignée F11 qui présente des paramètres de fertilité supérieurs à la lignée F22. Enfin, les corrélations obtenues entre la chémérine et les paramètres de fertilité dans ces deux lignées, et ceci malgré un faible nombre d'individus ($n=30$), renforcent l'hypothèse de l'implication de cette protéine dans le développement embryonnaire.

CONCLUSION

Comme la chémérine est bien conservée entre les espèces aviaires (2), nous émettons l'hypothèse que cette hormone, en raison de son énorme accumulation dans l'œuf, pourrait jouer un rôle crucial dans le développement de l'embryon et ainsi, pourrait être un marqueur de sélection dans les programmes d'élevage

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Kennedy AJ, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology CIII: Chemerin Receptors CMKLR1 (Chemerin1) and GPR1 (Chemerin2) Nomenclature, Pharmacology, and Function. Pharmacol Rev. 2018 Jan;70(1):174-196. doi: 10.1124/pr.116.013177. Epub 2017 Dec 26. PMID: 29279348; PMCID: PMC5744648.
2. Bernardi O, Estienne A, Reverchon M, Bigot Y, Froment P, Dupont J. Adipokines in metabolic and reproductive functions in birds: An overview of current knowns and unknowns. Mol Cell Endocrinol. 2021 Aug 20;534:111370. doi: 10.1016/j.mce.2021.111370. Epub 2021 Jun 23. PMID: 34171419
3. Diot M, Reverchon M, Rame C, Froment P, Brillard JP, Brière S, Levêque G, Guillaume D, Dupont J. Expression of adiponectin, chemerin and visfatin in plasma and different tissues during a laying season in turkeys. Reprod Biol Endocrinol. 2015 Jul 31;13:81. doi: 10.1186/s12958-015-0081-5. PMID: 26228641; PMCID: PMC4521348.
4. Estienne A, Ramé C, Ganier P, Chahnamian M, Barbe A, Grandhaye J, Dubois JP, Batailler M, Migaud M, Lecompte F, Adriaensen H, Froment P, Dupont J. Chemerin impairs food intake and body weight in chicken: Focus on hypothalamic neuropeptides gene expression and AMPK signaling pathway. Gen Comp Endocrinol. 2021 Apr 1;304:113721. doi: 10.1016/j.ygcen.2021.113721. Epub 2021 Jan 23. PMID: 33493505.
5. Estienne A, Reverchon M, Partyka A, Bourdon G, Grandhaye J, Barbe A, Caldas-Silveira E, Rame C, Nižański W, Froment P, Dupont J. Chemerin Impairs In Vitro Testosterone Production, Sperm Motility, and Fertility in Chicken: Possible Involvement of Its Receptor CMKLR1. Cells. 2020 Jul 1;9(7):1599. doi: 10.3390/cells9071599. PMID: 32630345; PMCID: PMC7408590.
6. Mellouk N, Ramé C, Barbe A, Grandhaye J, Froment P, Dupont J. Chicken Is a Useful Model to Investigate the Role of Adipokines in Metabolic and Reproductive Diseases. Int J Endocrinol. 2018 Jun 19;2018:4579734. doi: 10.1155/2018/4579734. PMID: 30018639; PMCID: PMC6029501.
7. Kullu SS, Das A, Bajpai SK, Garg AK, Yogi RK, Saini M, Sharma AK. Egg production performance, egg yolk antioxidant profile and excreta concentration of corticosterone in golden pheasants (Chrysolophus pictus) fed diets containing different levels of green vegetables. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2017 Oct;101(5):e31-e42. doi: 10.1111/jpn.12555. Epub 2016 Nov 9. PMID: 27862403.
8. Gugała D, Flis M, Grela ER. The effect of zinc, iron, calcium, and copper from organic sources in pheasant diet on the performance, hatching, minerals, and fatty acid composition of eggs. Poult Sci. 2019 Oct 1;98(10):4640-4647. doi: 10.3382/ps/pez162. PMID: 30980072.
9. Estienne A, Brossaud A, Reverchon M, Ramé C, Froment P, Dupont J. Adipokines Expression and Effects in Oocyte Maturation, Fertilization and Early Embryo Development: Lessons from Mammals and Birds. Int J Mol Sci. 2020 May 19;21(10):3581. doi: 10.3390/ijms21103581. PMID: 32438614; PMCID: PMC7279299.
10. Wyburn GM, Johnston HS, Draper MH, Davidson MF. The fine structure of the infundibulum and magnum of the oviduct of Gallus domesticus. Q J Exp Physiol Cogn Med Sci. 1970 Jul;55(3):213-32. doi: 10.1113/expphysiol.1970.sp002071. PMID: 5201499.

Figure 1. Données morphométriques et paramètres de reproduction des poules faisanes de la lignée F11 et F22

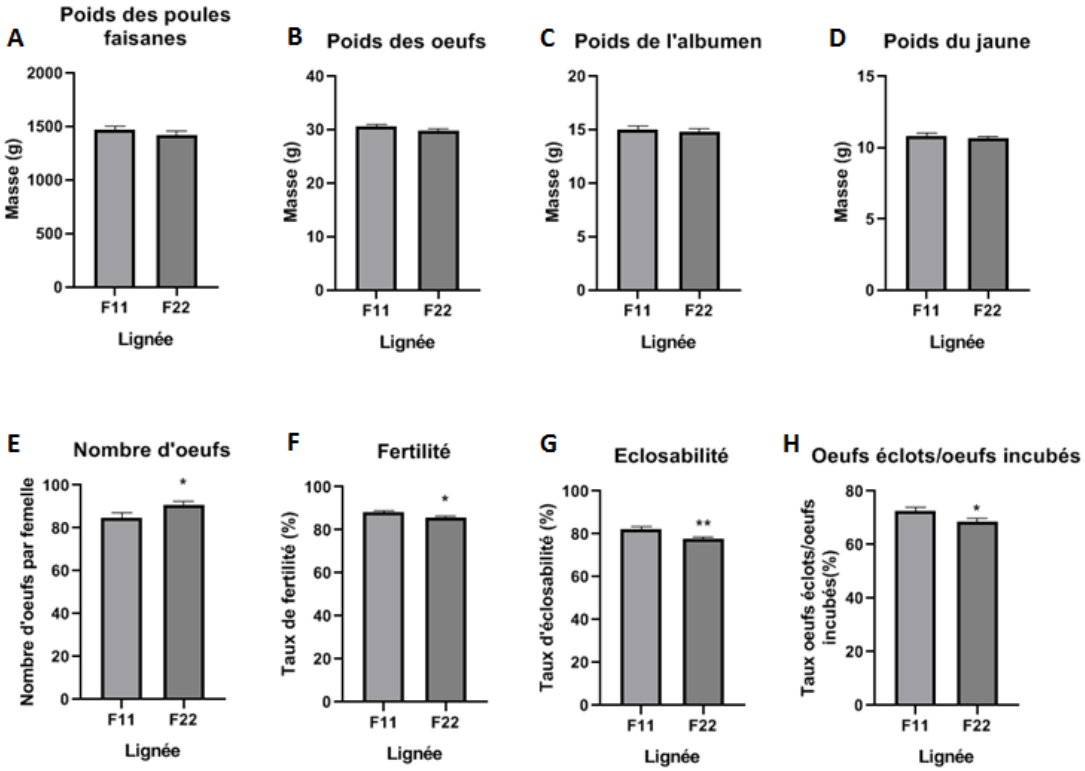


Tableau 1. Expression du système chémérine dans le tractus reproducteur des poules faisanes

Partie de l'oviducte	Infundibulum	Magnum	Isthmus	Uterus	Vagin
Chémérine (ARNm)	4,258±2,034	8,923±5,278	2,478±0,7858	9,178±2,388	5,483±3,843
GPR1 (ARNm)	906,9±172,5^{a}	456,1±200,1^{a}	484,1±67,69^{a}	2038±354,3^{b}	978,0±358,0^{ab}
Chémérine (protéine)	0,08927 ± 0.007^{a}	0,1773±0.03^{b}	0,08516±0.01^{a}	0,07623±0.01^{a}	0,05719±0.005^{a}

Tableau 2. Comparaison des lignées de poules faisanes F11 et F22 en termes de production de chémérine dans l'œuf

Lignée	F11	F22	*P value*
Chémérine dans le magnum	0,2952 ± 0.03	0,2063 ± 0.01	* (p=0.043)
Chémérine dans l'albumen	0,007857 ± 0.001	0,002424 ± 0.0004	**** (p<0,0001)

SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

Synthèse

CELLULES GERMINALES PRIMORDIALES AVIAIRES AU CŒUR DES AVANCEES DE LA CONSERVATION DES RESSOURCES GENETIQUES ET DE L'EDITION DES GENOMES. L'EXEMPLE FRANÇAIS.

Amélie Juanchich[1], Sabine Alves[2], Jacky Ezagal[1], Maria Bernard[3,4], Christophe Klopp[3], Hervé Acloque[4], Frédérique Pitel[5], Christelle Hennequet-Antier[1], Aurélien Brionne[1], Aurore Jacques[2], Celeste Le Bourhis[6], Sylvie Rival-Gervier[7], Bertrand Pain[7], Marina Govoroun[2]

[1]BOA, INRAE, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France
[2]PRC, INRAE, CNRS, IFCE, Université de Tours, 37380, Nouzilly, France
[3] Sigenae, INRAE, 78350 Jouy-en-Josas, France
[4]GABI, INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France
[5]GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31326 Castanet Tolosan, France
[6]PEAT, INRAE, 37380 Nouzilly, France
[7] Univ Lyon, Université Lyon 1, INSERM, INRAE, Stem Cell and Brain Research Institute, U1208, USC1361, 69500 Bron, France

marina.govoroun@inrae.fr

RÉSUMÉ
Les cellules germinales primordiales (PGCs pour « primordial germ cells ») sont des cellules souches de la lignée germinale, précurseurs des gamètes. Les PGCs aviaires peuvent être isolées grâce à leur accessibilité dans le jeune embryon et chez certaines espèces multipliées *in vitro*. Le progrès réalisé dans le système de culture des PGCs chez le poulet permet leur maintien et leur auto-renouvellement prolongés chez les deux sexes. Cela offre une possibilité de les modifier génétiquement et/ou les cryopréserver en nombre suffisant pour une utilisation ultérieure et notamment les transplanter dans un embryon receveur, où elles peuvent se développer en gamètes fonctionnels et donner une descendance. Grâce au développement de ces étapes, les PGCs de poulet cultivées *in vitro* représentent les cellules reproductrices de choix pour la conservation et restauration des ressources génétiques ainsi que l'édition du génome aviaire. Etant des cellules diploïdes, elles assurent la conservation et la restauration du génome complet des animaux des deux sexes. Dans ce contexte, nous avons développé à INRAE la maîtrise de cette biotechnologie de reproduction basée sur les PGCs chez le poulet et l'avons appliquée à la conservation et à la restauration des ressources génétiques de la Poule Noire du Berry ainsi qu'à l'édition du gène BCMO1. Nous avons réussi pour la première fois à restaurer un génotype en une seule génération ainsi qu'obtenir les animaux porteurs du KO du gène BCMO1. Nous avons aussi étudié des facteurs qui pourraient lors des étapes *in vitro* impacter l'intégrité des PGCs et leur capacité de donner la descendance.

ABSTRACT
Primordial germ cells (PGCs) are the germ line stem cells, precursors of gametes. In Aves, PGCs can be isolated due to their accessibility in the early embryo and in some species propagated *in vitro*. The progress made in the *in vitro* culture of chicken PGCs allows their prolonged maintenance and self-renewal in both sexes. This offers the possibility to genetically modify and/or cryopreserve them in sufficient numbers for their later use. For example, they could be transplanted into a recipient embryo, where they may develop into functional gametes and produce offspring. Due to the development of these biotechnological steps, chicken PGCs propagated *in vitro* represent the reproductive cells of choice for the conservation and restoration of genetic diversity as well as the edition of avian genome. Being diploid cells, they ensure the conservation and restoration of the entire genome of animals of both sexes. In this context, we have developed at INRAE the reproductive biotechnology based on chicken PGCs and used it for the conservation and restoration of genetic resources of a local breed "la Poule Noire du Berry" as well as for the edition of BCMO1 gene. We succeeded for the first time in reviving a genotype in a single generation and in obtaining animals carrying the KO of BCMO1 gene. We also studied factors that could influence the integrity of PGCs during *in vitro* steps and their reproductive capacities.

INTRODUCTION

La protection des races aviaires anciennes à petits effectifs qui représentent d'une part un réservoir important de la diversité génétique et d'autre part sont menacées d'extinction, des souches commerciales et des lignées expérimentales précieuses nécessite la préservation de l'ensemble du génotype de l'animal. Les ovocytes et les zygotes des oiseaux sont très riches en lipides, ce qui ne permet pas leur cryoconservation. Pour cette raison, la conservation des ressources génétiques aviaires repose essentiellement sur la cryoconservation du sperme. Cependant la restauration du génotype en utilisant la semence cryoconservée n'est pas complète et nécessite de nombreuses générations successives d'insémination (Blesbois *et al*., 2007). De plus, elle ne permet pas la conservation du chromosome sexuel W spécifique à la femelle. Les particularités de développement de l'ovocyte aviaire ainsi que celle de l'embryon n'ont pas non plus permis le développement de la transgénèse et de la génomique fonctionnelle chez les espèces aviaires à la même échelle que chez les mammifères ou les poissons. Effectivement, le clonage développé chez les mammifères ne peut pas être réalisé de la même manière chez l'oiseau (Panda *et al*., 2021). La transgénèse par injection d'ADN dans le noyau n'est pas possible dans l'embryon, ni au stade une cellule comme chez les poissons car il est peu accessible et non transférable dans l'animal, ni dans l'embryon plus développé, comme chez les mammifères, puisque l'embryon d'oiseau compte déjà 25000-50000 cellules au moment de la ponte. Seule l'injection de vecteurs lentiviraux à haute concentration dans l'embryon juste après la ponte permet de modifier un maximum de cellules embryonnaires dont les cellules germinales qui représentent environ 0,11% des cellules à ce stade (Tzukenawa *et al*., 2000), et ainsi obtenir une transmission germinale du transgène (McGrew *et al*., 2004). Il est donc nécessaire de développer de nouvelles biotechnologies de reproduction basées sur d'autres types de cellules reproductrices aviaires permettant de conserver efficacement les patrimoines génétiques et d'éditer le génome aviaire (Whyte *et al*., 2016, Woodcock *et al*., 2017).

Les précurseurs de la lignée germinale sont appelés cellules germinales primordiales (PGCs pour « primordial germ cells »). Les PGCs sont des cellules souches destinées à se développer en gamètes au sein de la gonade. Chez les espèces aviaires, grâce à leur formation précoce et à leurs particularités de migration dans l'embryon, les PGCs peuvent être isolées à partir de la structure extra embryonnaire appelée le croissant germinale (Song *et al*., 2014) et avant la colonisation des gonades lors de leur transit dans la circulation sanguine de l'embryon, où elles sont particulièrement accessibles pendant quelques heures. Les PGCs aviaires peuvent être également isolées à partir des gonades jusqu'à 9 jours d'incubation de l'embryon chez le poulet (Nakamura *et al*., 2013). A ces stades embryonnaires, en particulier aux stades prégonadiques, les PGCs sont présents en très petit nombre et doivent être multipliées pour être utilisées efficacement pour les biotechnologies de reproduction. Les PGC isolées du poulet, peuvent être cultivées et amplifiées *in vitro*, cryoconservées et/ou transplantées dans des embryons hôtes. Cette transplantation est effectuée par injection dans l'aorte dorsale, au stade où les PGCs circulent dans le système sanguin et migrent dans les gonades. De même, les PGCs de canard peuvent être isolées, amplifiées et injectées dans des embryons receveurs (Chen *et al*., 2019). Les PGCs injectées peuvent ensuite se développer en gamètes fonctionnels dans les gonades du receveur (van de Lavoir *et al*., 2006). Un animal dont les gonades contiennent les cellules germinales d'un autre animal en même temps que ses propres cellules germinales est appelé chimère germinale. Chez la volaille, le développement de ces méthodes rend incontournable l'utilisation des PGCs pour la conservation des ressources génétiques, offrant la possibilité de préserver le génome diploïde complet des deux sexes et de restaurer rapidement les génotypes conservés (Nandi *et al*., 2016, Woodcook *et al.,* 2019). Ces biotechnologies permettent aussi d'utiliser les PGCs en tant que véhicule efficace pour l'édition du génome aviaire (Woodcock *et al.,* 2017, Panda *et al*., 2021). Leurs différentes étapes sont présentées sur la Figure 1.

1. LES AVANCEES DE LA GESTION DES RESSOURCES GENETIQUES AVIAIRES EN UTILISANT LES PGCs

1.1 Développement des cultures *in vitro* des PGCs

Le poulet est l'unique espèce pour laquelle les méthodes de culture *in vitro* permettant la multiplication prolongée des PGCs sont bien maitrisées. Le premier système de culture développé à ces fins était basé sur le milieu conçu initialement pour la croissance des cellules pluripotenes de la souris. Il impliquait l'utilisation des cellules nourricières et la supplémentation par du sérum de veau fœtal (SVF), du sérum de poulet et des facteurs de croissance stem cell factors (SCF) et fibroblast growth factor (FGF) (van de Lavoir *et al*., 2006). Il a permis de dériver des cultures (i.e. obtenir une culture d'un type de cellules à partir d'un prélèvement biologique contenant plusieurs types cellulaires ou d'un autre type cellulaire) de longue durée des PGCs principalement mâles qui ont donné une descendance

après leur injection dans l'embryon hôte. Cependant, le taux de dérivation des cultures de PGCs à partir des embryons individuels était faible (12,3 % pour les cultures mâles et 1,7 % pour les cultures femelles) et les PGCs femelles ne pouvaient pas être maintenues en culture au-delà de 79-110 jours. Effectivement, comme ont montré les travaux postérieurs d'autres laboratoires, ce milieu de culture et les milieux de culture similaires sont peu ou pas efficaces pour dériver des cultures de PGCs femelles, qui présentent pourtant un intérêt majeur pour cette biotechnologie par rapport à la cryopréservation de sperme. (Macdonald *et al*., 2010, Song *et al*., 2014).

Les travaux de l'équipe de M. McGrew ont révolutionné le système de culture des PGCs de poulet en proposant un milieu de culture sans cellules nourricières et sans sérum permettant de dériver et de multiplier indéfiniment les PGCs des deux sexes (Whyte *et al*., 2015, Nandi *et al*. 2016). Les travaux de cette équipe ont permis d'identifier les facteurs indispensables pour la prolifération des PGCs des deux sexes *in vitro* et la conservation de leur compétence germinale en culture jusqu'à la production de la descendance. Parmi ces facteurs figurent l'osmolarité adaptée aux PGCs du poulet, des concentrations basses en calcium et la supplémentation par de l'héparine pour diminuer l'agrégation des PGCs femelles, l'ovotransferrine, les facteurs de signalisation FGF, l'activine et/ou BMPs (pour bone morphogenetic protein) et l'insuline pour l'autorenouvèlement des PGCs. En conclusion ces dernières avancées ont permis l'obtention des cultures de PGCs des deux sexes avec un taux de réussite allant jusqu'à 90%. Nos propres expériences ont permis d'obtenir un taux de dérivation de culture de PGCs des deux sexes à partir des embryons individuels dépassant 90% dans ce dernier milieu de culture. Cependant, selon le fond génétique les variations importantes des taux de dérivation des cultures de PGCs peuvent être également observées (Lázár, *et al*., 2021).

1.2 Transmission germinale des PGCs dérivées en culture et les facteurs l'influençant.

Le taux de transmission germinale des PGCs dérivées *in vitro* est connu pour être très variable. Ainsi le taux de transmission germinale des PGCs prélevées lors de leur migration dans les gonades et cultivées dans le milieu KO-DMEM conditionné par les cellules nourricières et supplémenté par SVF, SCF et FGF pouvait varier de 1 à 84% pour les PGCs mâles de la même culture et de 1 à 69 % pour les PGCs femelles de la même culture lors des transplantation unisexe (les PGCs donneuses et l'embryon receveur sont de même sexe) (van de Lavoir *et al*., 2006). Les variations similaires ont été rapportées pour les cultures de PGCs prélevées du croissant germinales et des gonades (Song *et al.,* 2014). Le taux de transmission germinale pour différentes cultures de PGCs est également connu pour être variable. Par exemple, pour 7 cultures différentes de PGCs mâles du poulet Barred Plymouth Rock (BPR), la transmission germinale maximale variait de 1 à 86 % et pour 2 cultures différentes de PGCs femelles BPR elle variait de 12 à 69% pour la même quantité de PGCs injectées dans l'embryon hôte lors des transplantations unisexes (van de Lavoir *et al*., 2014). Les variations observées pour une même culture peuvent dépendre de la qualité d'injection et de la compétition des PGCs donneuses avec les PGCs endogènes de différents hôtes. Celles observées pour les cultures de PGCs différentes, peuvent dépendre des particularités intrinsèques (génétique, épigénétique) de chaque culture ainsi que du contexte de l'hôte. Des variations des taux de transmission germinale des PGCs dérivées dans le milieu KO DMEM aviaire, supplémenté en sérum de poulet, insuline, Activine A et FGF ont également été observées. Pour les PGCs femelles cultivées dans ce milieu, cryopréservées et réamplifiées *in vitro* dans le même milieu ce taux variait de 44 à 134% pour la même culture et pour les PGCs mâles il était de 5% lors des transplantations unisexes (Whyte *et al.,* 2015). Cela indique que le milieu de culture pourrait influencer de manière sexe spécifique la capacité des PGCs à entrer en compétition avec les cellules endogènes de l'hôte. En comparaison avec cette étude, des différences dans les taux de transmission germinale entre les PGCs mâles et femelles n'ont pas été observées pour le milieu décrit par van de Lavoir (van de Lavoir *et al.,* 2006, Song *et al*., 2014). En revanche, la fréquence de dérivation des cultures de PGCs mâles dans ce dernier milieu était plus importante que celle des PGCs femelles. Ces données suggèrent que les différents milieux de culture peuvent affecter différemment la qualité des PGCs en fonction de leur sexe. D'autre facteurs peuvent influencer le taux de transmission germinale tels que la durée de culture qui conditionne le nombre de divisions que les PGCs subissent en culture. Il a été montré que les PGCs femelles après 6 mois de culture se développaient moins bien que les PGCs femelles après 3 mois ou moins de cultures après leur injection dans le même embryon hôte et contribuait très peu à la descendance (Woodcock *et al*., 2019). Les PGCs mâles cultivées pendant 3 mois se développaient dans la gonade hôte jusqu'aux gamètes, mais n'étaient pas capable de concourir avec les gamètes endogènes pour fertiliser l'ovocyte et donner une descendance. Il a aussi été montré que si les PGCs des poulets de chair dérivées en culture étaient injectées dans les embryons hôtes des lignées pondeuses elles n'étaient pas capables de donner une descendance (Woodcock *et al*., 2019). Le taux de transmission germinale par les PGCs dérivées *in vitro* lors de la transplantation

unisexe est donc une valeur assez aléatoire et la nature de ce phénomène semble être multifactorielle et dont les mécanismes ne sont pas bien compris. Lors de la transplantation intersexe des PGCs dérivées *in vitro* dans la plupart des cas décrits, la descendance du donneur n'a pas été obtenue. Cependant, les PGCs des donneurs ZZ dérivées *in vitro* se différenciaient en ovocytes fonctionnels et produisaient une progéniture après transplantation dans un embryon hôte ZW partiellement stérilisé (Liu *et al*., 2017). Les différents exemples cités montrent que le taux de transmission germinale des PGCs dérivées *in vitro* dépend des facteurs environnementaux *in vitro* et *in vivo* et des facteurs intrinsèques des PGCs. On peut penser que ces différents facteurs affectent finalement la capacité des PGCs du donneur à concurrencer les PGCs endogènes de l'hôte à différents stades du développement postnatal jusqu'à la production des gamètes et pour les spermatozoïdes jusqu'à la fertilisation.

1.3 Développement des hôtes stériles pour la transplantation des PGCs exogènes.

Pour pallier au problème de compétition avec les PGCs endogènes et améliorer la transmission germinale du matériel génétique du donneur, il est pertinent d'éliminer les PGCs de l'hôte en le rendant stérile. Des oiseaux stériles peuvent être obtenus naturellement par croisement entre différentes espèces (ex. canard mulard, hybrides faisan-poulet, pintade-poulet). Ces hybrides présentent un intérêt en tant que hôtes potentiels pour les PGCs exogènes. La colonisation des gonades des embryons hybrides pintade-poulet par des PGCs de poulet dérivées *in vitro* et leur développement jusqu'au jour 18 d'incubation a été montré mais leur descendance n'a pas été décrite (Molnár *et al*., 2019). Récemment deux types d'hôtes stériles ont été créés par édition du génome. Le premier est le résultat du Knock-Out (KO) du gène DEAD-Box Helicase 4 (DDX4) spécifique à la lignée germinale et localisé sur le chromosome Z (Taylor *et al*., 2017, Woodcock *et al*., 2019). Les coqs portent cette modification génétique à l'état hétérozygote (Z+Z-) et sont fertiles, tandis que chez les poules le KO est total (Z-W) conduisant à leur stérilité complète. Les femelles stériles (Z-W) utilisées en tant que hôtes pour les PGCs du donneur produisent la descendance 100% issus du donneur. Le deuxième hôte stérile contient une modification génétique Knock-In (KI) consistant en l'insertion du transgène codant pour la protéine caspase 9 humaine inductible (iCaspase 9) sous le contrôle du locus du gène DAZL spécifique des cellules germinales. L'induction de l'iCaspase 9 provoque la mort des PGCs endogènes aux stades embryonnaires précoces conduisant à la stérilité chez les deux sexes (Ballantyne *et al*., 2021). L'utilisation de cet hôte stérile a permis d'obtenir 100% de la descendance issue des PGCs du donneur chez les deux sexes. De plus, un receveur stérile permet de multiplier les génotypes des PGCs transplantées et obtenir une descendance issue de différents génotypes donneurs. Cela offre un grand potentiel pour la gestion des ressources génétiques aviaires en permettant de réduire considérablement le nombre d'animaux utilisés comme receveurs, ainsi que le nombre de leurs descendants pour restaurer un génotype étant donné que toute la descendance sera issus de PGCs du donneur Cela permet aussi de s'affranchir de lourdes procédures de génotypage, onéreuses et pas toujours faciles à mettre en œuvre chez certaines espèces aviaires. Les receveurs stériles iCaspase 9 permettent aussi le développement et la différenciation des PGCs issues d'un donneur de sexe différent de celui du receveur. Effectivement, les PGCs des donneurs mâles se développent dans les gonades des receveurs iCaspase 9 femelles en ovocytes fonctionnelles pouvant donner la descendance. De même, les PGCs des donneurs femelles se développent dans les gonades des receveurs iCaspase 9 mâles en spermatozoïdes fonctionnelles pouvant donner une descendance, mais uniquement mâles, suggérant que les spermatozoïdes W sont soit absents soit non fonctionnels (Ballantyne *et al*., 2021).

Cependant, un seul laboratoire dans le monde dispose actuellement de ces animaux édités pour être stérile. Se pose également la question d'acceptation par la société de l'utilisation d'animaux transgéniques pour la restauration de ressources génétiques avicoles aussi bien d'élevage que sauvage. Dans ce contexte, il est nécessaire de faire un travail de vulgarisation et d'explication des avantages pour l'éthique animale, notamment concernant la règle des 3 R (Réduction, Remplacement, Raffinement) de l'utilisation d'animaux stérilisés par ingénierie génétique. Il faut aussi expliquer qu'il n'existe pas de risques concernant la transmission potentielle d'un transgène ou de la mutation à leurs descendances, puisque les PGCs du donneur ne sont pas génétiquement modifiées. En attendant de pouvoir utiliser ces animaux stériles, il faut continuer à explorer comment améliorer la transmission germinale des PGCs du donneur transplantées dans un hôte génétiquement non modifié et donc produisant ses propres gamètes. Il serait intéressant dans ce contexte de repérer des lignées/souches qui ont naturellement des problèmes de fertilité et tester si nous pourrions améliorer la transmission germinale des PGCs des donneurs en utilisant ces animaux comme receveurs.

2. EXEMPLE FRANÇAIS : CONSERVATION DE LA POULE NOIRE DU BERRY.

Ces dernières années, nous avons mis en place à INRAE un dispositif complet de conservation et de restauration des ressources génétiques du poulet, basé sur les PGCs dérivées *in vitro* et cryoconservées à travers les projets nationaux et internationaux (VALBIODI - projet région Centre, CRB ANIM - projet national infrastructure, IMAGE - H2020). Le modèle utilisé est la Poule Noire du Berry (NB), une race locale à petit effectif, en danger de disparition, de valeur mixte domestiqué et implantée dans la région Centre-Val de Loire depuis plus de 100 ans.

2.1 Etapes *in vitro*. L'impact sur l'intégrité des PGCs.

Nous avons développé des cultures de PGCs NB pérennes en utilisant le milieu de culture compatible avec la prolifération des PGCs des deux sexes (Whyte *et al*., 2015) avec des modifications mineures. Nous avons dérivé des dizaines de cultures de PGCs mâles et femelles à partir des embryons individuels et optimisé la procédure qui nous a permis d'obtenir le taux de dérivation de culture allant au-delà de 90%. Ces cellules exprimaient les marqueurs des cellules germinales et souches et montraient une bonne efficacité de colonisation des gonades. Comme les étapes *in vitro* sont susceptibles d'influencer la qualité des PGCs, c'est-à-dire leur aptitude à se développer jusqu'aux gamètes fonctionnels et donner une descendance, nous avons étudié leur impact sur l'intégrité moléculaire des PGCs. Nous avons mis en évidence par le séquençage du transcriptome (RNAseq) et l'analyse du méthylome par RRBS (Reduced Representation Bisulfite Sequencing) que la durée de culture (plus de 6 mois en culture) affectait le transcriptome et la méthylation de l'ADN des PGCs et que cet effet était significativement plus marqué chez les PGCs mâles que chez les PGCs femelles. Il est intéressant de noter que les PGCs mâles dérivés dans le même milieu de culture que les PGCs femelles ont montré un taux de transmission germinale plus faible que ces dernières. Il est donc possible que les PGCs mâles soient plus sensibles à ce milieu de culture que les PGCs femelles. Pour comprendre les mécanismes moléculaires qui pourraient être impliqués dans ce phénomène, nous avons comparé le phénotype moléculaire des PGCs mâles et femelles. Nous avons montré grâce à une étude protéomique que malgré l'état indifférencié bipotentiel des PGCs prégonadiques au regard du sexe, elles présentaient des différences importantes d'abondance de protéines entre les deux sexes. Ainsi nous avons mis en évidence l'identité sexuelle précoces des PGCs prégonadiques indépendante des hormones sexuelles et du contexte gonadique et mis en avant le rôle des chromosomes sexuels dans ce phénomène (Soler *et al.*, 2021). Les analyses du transcriptome par RNAseq et de la méthylation de l'ADN par RRBS ont montré que les différences sexuelles des PGCs prégonadiques étaient présentes aussi aux niveaux du transcriptome et du méthylome et qu'elles variaient en fonction de la durée de culture. Ces données renforcent l'hypothèse que les PGCs peuvent présenter une sensibilité différente envers le milieu de culture en fonction du sexe, ce qui peut avoir un impact sur leur capacité de procréation. Nous avons également étudié l'effet de la cryopréservation sur l'intégrité moléculaire des PGCs. Sous le terme cryopréservation nous incluons l'ensemble des quatre étapes : la congélation des PGCs, le stockage des PGCs congelées, leur décongélation et leur réamplification en culture. Nous avons montré que la cryopréservation n'avait que très peu d'impact sur le transcriptome des PGCs, et peu d'impact sur la méthylation de leur ADN. Ces résultats suggèrent que les étapes *in vitro* doivent être mieux adaptées au sexe des PGCs à travers notamment l'étude de la fonction des gènes dont l'expression change durant les cultures.

2.2 Etapes *in vivo*. Restauration du génotype

Nous avons mis en place un dispositif fonctionnel d'obtention de la descendance à partir des PGCs NB cryopréservées. Les chimères germinales ont été obtenues par injection de PGCs NB dérivées *in vitro* et cryopréservées dans des embryons hôtes Rhode Island (RI). Pour cela, des PGCs issus de 12 cultures ont été injectées dans les embryons RI dont trois cultures de PGCs mâles et trois cultures de PGCs femelles cryopréservées après 1 et 9 mois de culture chacune. L'éclosabilité des poussins chimères germinales potentielles était en moyenne de 30%. Pour évaluer le taux de transmission germinale des PGCs NB les chimères germinales NB-RI potentielles ont été croisées à l'âge de la maturité sexuelle avec les animaux RI. La couleur noire des animaux NB est dominante dans ce croisement, donc les poussins noirs nés de ce croisement sont hybrides et contiennent la moitié du génome des PGCs NB. 18 à 50% des chimères germinales potentielles femelles unisexes selon la culture injectée ont eu une partie de leur descendance de la couleur noire. Une chimère germinale femelle intersexe sur l'ensemble des chimères germinales potentielles femelles intersexes testées a donné un poussin noir. Parmi les chimères germinales potentielles mâles unisexes 0 à 100% d'animaux selon la culture injectée ont produit une partie de la descendance de la couleur noire. Aucune chimère germinale potentielle mâle intersexe n'a produit de poussins noirs. La transmission germinale moyenne des PGCs NB femelles après 1 mois de culture par les chimères germinales unisexes variait de 12 à 74 % selon la culture et en moyenne était de 52%. En revanche la transmission germinale des cultures de PGCs femelles après 9 mois de culture variait de 3,8 à 33% selon la culture et en moyenne étaient de 14,7%. Cela suggère que la durée de culture affecte non seulement leur intégrité moléculaire, mais également leur capacité de produire une descendance dans l'environnement de la gonade hôte. La

transmission germinale des PGCs mâles après 1 mois de culture étaient plus modeste. Elle variait de 3,8 à 43% et en moyenne était de 13,8 %, donc nettement inférieure à celle des PGCs femelles après 1 mois de culture. Ces résultats sont en accord avec les travaux précédents décrits pour le milieu de culture similaire à celui utilisé pour les PGCs NB (Whyte *et al*., 2015). En se basant sur nos données, nous n'avons pas pu conclure sur l'influence de la durée de culture sur le taux de transmission germinale des PGCs mâles aux vues des effectifs faibles de chimères germinales potentielles mâles qui ont été obtenus.

Pour explorer la possibilité de restauration du génotype en une seule génération nous avons croisé une chimère germinale femelle avec une chimère germinale mâle qui ont montré au préalable les taux de transmission germinale les plus élevées pour les PGCs NB. Sur 23 poussins nés de ce croisement 7 poussins étaient noirs. Parmi ces derniers un poussin a été confirmé être homozygote par génotypage. C'est la première fois que le génotype complet du donneur a été obtenu en utilisant uniquement les PGCs cryoconservées et transplantées dans un hôte non stérile.

L'ensemble de ces résultats montre que les PGCs cultivées *in vitro* et cryopréservées représentent un dispositif efficace pour conserver et restaurer les ressources génétiques du poulet et offrent une possibilité de restaurer le génotype en une seule génération. Cependant plusieurs facteurs comme la durée de culture de PGCs et leur compétition avec les cellules germinales endogènes de l'hôte doivent être pris en compte et être explorés pour améliorer l'efficacité de cette nouvelle biotechnologie de la reproduction.

2.3 Exemple de la stratégie de conservation de la Poule Noire du Berry basée sur les PGCs: du terrain à la cryobanque nationale.

La Poule Noire du Berry est la première race à bénéficier d'une stratégie de conservation par les cellules germinales diploïdes PGCs, qui ont complété la collection de la semence de la poule NB de la cryobanque nationale. Pour cela nous avons choisi deux approches. La première consistait à choisir des animaux pour les accouplements, à produire les embryons à partir de chaque couple identifié, à dériver les cultures de PGCs à partir de ces embryons, à les sexer et cryopréserver. Ainsi nous avons cryoconservé sous forme de PGCs 24 embryons issus de 6 couples différents. Cette approche a été appliquée aux animaux qui étaient reproduits à INRAE pendant 6 générations et étaient bien habitués à l'insémination artificielle. Nous avons conservé aussi l'ADN des parents de chaque embryon ayant servi à la production des cultures des PGCs pour assurer le traçage du pedigree. Cette approche est intéressante pour conserver des animaux particuliers avec des performances intéressantes préalablement connues. Cependant pour conserver la diversité génétique il peut y avoir aussi un intérêt de conserver des animaux de petits élevages, élevés en plein air et qui ne sont pas habitués aux manipulations et à l'insémination artificielle. Nous avons donc réalisé une deuxième approche toujours sur le modèle NB, dans laquelle les animaux ont été fourni par la ferme de Plume-Cane à INRAE à l'âge de la maturité sexuelle. Les animaux se sont accouplés naturellement et les œufs ont été régulièrement ramassés pour prélèvement et culture des PGCs. Ainsi 12 embryons mâles et 12 embryons femelles ont été cryoconservés sous forme de PGCs. Les animaux après avoir passé 2 mois à INRAE ont été rendus à la ferme. En principe, les œufs peuvent être ramassés directement sur le terrain et envoyés pour la conservation des PGCs au laboratoire.

En conclusion l'approche de conservation des ressources génétiques par PGCs offre en plus d'une restauration rapide du génotype à 100%, une souplesse de collecte du matériel sur le terrain et peut donc servir aux différents objectifs de la conservation.

3. DEVELOPPEMENT DE L'EDITION DU GENOME CHEZ LE POULET GRACE A L'UTILISATION DES PGCS

3.1 Etat des lieux dans le domaine

3.1.1 L'édition du génome par le système CRISPR

En 2012, les laboratoires d'Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna ont publié la fonctionnalité du système CRISPR dans les cellules eucaryotes (Jinek, M. *et al*., 2012*)*. Depuis, le champ d'application de cette technologie pour la modification du génome a explosé. De nombreuses revues sur le sujet permettent d'avoir une vision générale de la technologie et de ses applications (Ducos *et al.*, 2018 ; Komor A. *et al*., 2017 ; Zhang F., 2019). La technologie d'édition génomique CRISPR repose sur l'utilisation d'une nucléase bactérienne guidée par une molécule d'ARN guide vers un site génomique où elle effectue une coupure double-brin de l'ADN. Différentes nucléases peuvent être utilisées (Cas9, Cpf1…) en fonction de la séquence génomique à cibler et du type de mutation recherchée. La cellule va alors réparer cette coupure en suivant le plus souvent les deux mécanismes suivants (Ceccaldi R. *et al*., 2016) :

- le mécanisme NHEJ (Non Homologous End Joining) où la réparation de la coupure s'effectue

en liguant les extrémités de l'ADN. Ce processus conduit fréquemment à des erreurs de réparation et introduit des mutations aléatoires appelées indels (insertions ou délétions). Ce mécanisme est utilisé pour l'invalidation de gènes (KO).

- le mécanisme de recombinaison homologue (Homology Directed Repair ou HDR) par lequel la cellule utilise une matrice d'ADN comme modèle de réparation. L'HDR est utilisé pour l'introduction de manière ciblée dans le génome de mutations ponctuelles ou l'insertion de petites séquences (KI) en fournissant des ADN matrices (Yang H. *et al*., 2014).

3.1.2 Dernières avancées de l'édition de génome chez le poulet dans le monde

L'édition du génome chez la volaille, en particulier chez le poulet, est principalement effectuée à l'aide de PGCs cultivées *in vitro* (PGC) (Figure 1). En effet, les PGCs dérivées *in vitro* peuvent être éditées, puis sélectionnées pour la présence de la mutation, clonées. Les clones peuvent ensuite être amplifiés et cryopréservés. Par la suite, les PCGs modifiées sont injectées dans l'embryon hôte afin d'obtenir un animal édité, porteur de la mutation, en suivant les mêmes étapes utilisées pour la restauration des ressources génétiques décrites dans la section 1 (Figure 1). La maitrise de la culture *in vitro* des PGCs est donc absolument essentielle à la réussite de l'édition du génome chez le poulet et les autres espèces d'oiseaux.

Récemment, à l'aide de PGCs cultivées et du système CRISPR, l'édition du génome du poulet a été réalisée avec succès par différentes équipes de recherche dans le monde. Le premier poulet dont le génome a été modifié par le système CRISPR/Cas9 a été signalé en 2016. Dans cette étude, l'ovomucoïde (OVM), un allergène majeur du blanc d'œuf, a été éliminé chez le poulet à l'aide de CRISPR/Cas9 (Oishi I. *et al.*, 2016). Cette étude a démontré que la mutagenèse ciblée médiée par le système CRISPR/Cas9 pouvait être réalisée avec succès dans les PGC de poulet, entraînant une production efficace de poulets dont le génome était modifié. Par la suite, le knock-out de la myostatine (MSTN) et du gène de commutation G0/G1 (G0S2) chez le poulet a été réalisé à l'aide du système CRISPR/Cas9 (Park T.S. *et al*., 2019 ; Kim G.D *et al*., 2020). En parallèle, l'introduction de cassettes de gènes exogènes par HDR a été réalisée avec succès chez le poulet en utilisant aussi le système CRISPR/Cas9. En 2016, un site loxP a été introduit dans la région variable de la chaîne lourde d'immunoglobuline (IgH) à l'aide de la HDR médiée par CRISPR/Cas9, et un poulet édité a été produit (Dimitrov L. *et al.*, 2016). Cette étude a été la première à montrer que le ciblage génique médié par HDR peut être réalisé avec succès dans les PGC de poulet à l'aide de CRISPR/Cas9. Par la suite, en 2018, l'introduction du gène codant pour l'interféron β humain (hIFN-β) a été ciblé sur le locus de l'ovalbumine par HDR médiée par CRISPR/Cas9, ce qui a conduit à l'accumulation de hIFN-β dans le blanc d'œuf des poules porteuses de cette modification (Oishi I. *et al*., 2018). Chez la volaille, le knock-in médié par NHEJ a été signalé pour la première fois en 2018. Dans cette étude, une cassette d'expression de la protéine fluorescente verte (GFP) a été ciblée sur un locus entre la sous-famille A, membre 1 de l'homologue DNAJ (DNAJA1) et le régulateur de réplication de l'ADN et le facteur spliceosomal. (SMU1) du chromosome Z, résultant en la production réussie de poulets exprimant la GFP qui peuvent être utilisés comme modèle de sexage aviaire (Lee H.J *et al.*, 2019). Très récemment, le KI inductible d'iCaspase 9 humaine réalisé grâce à la technologie CRISPR a été rapporté (Ballantyne M. *et al*., 2021). Les animaux présentent une stérilité inductible femelle et mâle dont l'utilité a été décrite précédemment. Ainsi, ces études ont montré que l'édition du génome médiée par CRISPR/Cas9, y compris la mutagenèse ciblée et le ciblage génique médié par HDR/NHEJ, pouvait être menée avec succès dans des PGC cultivées pour produire de la volaille à génome modifié. Un résumé des différentes études est présenté dans le tableau 1.

3.1.3 Enjeux pour la recherche et la durabilité des élevages

Bien que la question de l'utilisation des « New Breeding Technologies (NBTs) » en élevage ne soit pas d'actualité en Europe et encore moins en France, la recherche doit aujourd'hui maîtriser ces techniques pour pouvoir les évaluer de façon critique mais aussi les utiliser comme outil puissant d'amélioration des connaissances sur les mécanismes d'élaboration des phénotypes. Si le développement des productions animales a pendant longtemps été porté par l'amélioration des caractères de productivité, l'analyse de leur durabilité met aujourd'hui en exergue la nécessité d'améliorer d'autres types de critères liés à la robustesse de l'animal (capacité à vivre et à se reproduire en bonne santé) et à la qualité de ses produits. Les études scientifiques utilisant l'édition du génome se portent donc naturellement vers ce type de caractères. La résistance aux maladies est un enjeu important de l'élevage avicole dans un contexte de grippe aviaire périodique mais aussi d'autres maladies ayant des impacts importants sur le rendement économique des élevages. Dans ce contexte, l'édition du génome peut apporter un certain nombre de solutions.

3.2 Développement en France : l'exemple du projet INRAE CRISP'CHICK

3.2.1 Objectifs du projet

L'objectif du projet CRISP'CHICK est de faire la démonstration de la maîtrise fonctionnelle des outils d'édition du génome chez le poulet à INRAE en caractérisant *in vivo* quelques-uns des acteurs moléculaires impliqués dans différents phénotypes d'intérêt. Pour cela, le projet rassemble des expertises complémentaires en génétique moléculaire, biotechnologies de la reproduction, expérimentation et phénotypage. Plusieurs gènes candidats issus des travaux des équipes ont été choisis pour cette étude pilote, et le projet commence par l'invalidation du gène BCMO1 chez le poulet.

3.2.2 Premiers résultats : production d'une lignée éditée pour le gène BCMO1

Le rôle principal de BCMO1 est la conversion des β-caroténoïdes au niveau intestinal. En effet, BCMO1 code pour une enzyme clé de la voie majeure de conversion du β-carotène en vitamine A. Il a aussi été identifié comme gène candidat pour le déterminisme de la couleur de la viande du poulet (Le Bihan Duval E. *et al*., 2011 ; Jlali M. *et al*., 2014). Différents polymorphismes en lien avec le caractère ont été identifiés chez le poulet. Si des régulations au niveau intestinal ont été mises à jour *in vitro* (Praud C. *et al*., 2017), le mode d'action du gène et les effets biologiques associés restent à être élucidés *in vivo*. De plus, le gène BCMO1 se trouve dans une région QTL identifiée en lien avec l'efficacité digestive illustrant ses effets pléiotropes. Ce gène apparaît comme un excellent candidat pour l'étude des interactions entre la capacité digestive, le métabolisme des caroténoïdes et plus largement des lipides, et la qualité des produits.

Le projet se décline donc en plusieurs étapes : la production des cellules reproductrices (cellules germinales primordiales ou PGCs) exprimant la GFP et éditées pour le gène d'intérêt, l'injection de ces cellules dans des embryons receveurs, l'éclosion et l'élevage des animaux dont la première génération F0 est porteuse germinale de la mutation, et dont les générations suivantes sont porteuses germinales et somatiques de la mutation. Le projet permet ainsi la création de lignées expérimentales en vue de la caractérisation fine du phénotype en lien avec la mutation chez le poulet.

Les PGCs de la lignée expérimentale INRAE X33 (souche Label) ont été dérivées in vitro selon le protocole décrit par Whyte J. *et al.*, 2015. Le gène codant pour la GFP ainsi qu'une cassette d'antibiorésistance Hygromicine ont été introduits aléatoirement dans le génome des cellules par transfection chimique (Lipofectamine, Invitrogen). La fluorescence a été observée dans les cellules, celles-ci étant sélectionnées grâce à la cassette d'antibiorésistance Hygromicine. Les PGCs GFP positives ont été utilisées comme support pour l'édition du gène BCMO1. L'invalidation du gène BCMO1 a été réalisée par l'électroporation conjointe de deux ARN guides ciblant le gène BCMO1 et la nucléase CPF1. Les PGCs électroporées ont été isolées par dilution sériée, une par puit de culture distincts afin de pouvoir produire des lignées de PGCs indépendantes et porteuse de la mutation de façon clonale. Chaque lignée a été séquencée pour la présence de la mutation dans le gène BCMO1. Une lignée femelle et une lignée mâle ont été sélectionnées pour la production d'animaux édités *in vivo*. Les PGCs d'intérêt ont aussi été cryoconservées.

Les deux lignées mâles et femelles de PGCs ont été injectées dans des embryons receveurs (Figure 1). Les poussins issus de ces embryons sont donc potentiellement porteurs germinales de la mutation BCMO1. Ce sont les animaux F0 du projet, qui ont été croisés pour produire des animaux F1, porteurs germinales et somatiques de la mutation. La présence du gène GFP dans l'ADN des spermatozoïdes des coqs F0 a été détectée par PCR pour optimiser les croisements et ainsi la transmission germinale des PGCs injectées. Le gène a été détecté chez les 16 coqs mais la quantité de GFP était variable entre les coqs. Chaque semaine, les coqs ayant le plus de spermatozoïdes avec de la GFP dans leur semence ont été sélectionnés pour les inséminations artificielles. Les poussins F1 issus du croisement des animaux F0 ont été génotypés pour la présence dans leur génome du gène GFP, présent seulement dans les PGCs éditées. Nous avons obtenu 62 animaux F1 éditées, 29 femelles et 33 mâles ; et 24 animaux témoins (même procédure mais non porteur de la mutation sur le gène BCMO1). Le taux de transmission germinale est de 30,0% et 28,2% pour les animaux témoins et les animaux édités respectivement. Actuellement, les animaux F1 sont au stade jeune et leur reproduction permettra la production d'animaux F2, homozygotes et hétérozygotes pour le KO de BCMO1. Ces animaux seront largement phénotypés pour mieux comprendre le rôle de BCMO1 chez le poulet.

CONCLUSION

Les travaux de ces dernières années montrent que les biotechnologies de reproduction chez le poulet basées

sur les PGCs cultivées *in vitro* représentent un outil puissant pour la conservation et la restauration des ressources génétiques ainsi que pour l'édition du génome. Le développement de ces outils en France ouvre des perspectives de conservation et de restauration des génotypes qui était jusqu'ici impossible en utilisant uniquement la semence. Pour la première fois en France, nous avons conservé et restauré le génotype en une seule génération grâce aux PGCs dérivées en culture en utilisant comme modèle la poule Noire du Berry. Des recherches sont encore nécessaires pour améliorer la transmission germinale des PGCs et favoriser leur développement dans l'organisme hôte. En parallèle, nous avons aussi réalisé pour la première fois en France l'édition du génome chez le poulet jusqu'aux étapes *in vivo* en utilisant les PGCs cultivées et obtenu les premiers poussins édités pour le gène BCMO1. Les lignées ainsi créées seront de nouveaux modèles expérimentaux et pourront être utilisées dans le futur notamment pour des études des fonctions et de leur régulation à l'échelle de l'organisme.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ballantyne M., Taylor L., Hu T, Meunier D., Nandi S., Sherman A., Flack B., Henshall J.M., Hawken R.J., McGrew M.J., 2021. Front Cell Dev Biol., (29), 726827.

Ballantyne M., Woodcock M., Doddamani D., Hu T., Taylor L., Hawken R.J., McGrew M.J., 2021. Nat. Commun, 12(1), 1-10

Blesbois E., Seigneurin, F., Grasseau, I., Limouzin, C., Besnard, J., Gourichon, D., Coquerelle, G., Rault, P., Tixier-Boichard, M., 2007. Poultry sci., (86), 555-564.
Ceccaldi R., Rondinelli B., D'Andrea A. D., 2016. Trends Cell Biol., 26, 52–64

Chen Y.C., Lin S.P., Chang Y.Y., Chang W.P., Wei L.Y., Liu H.C., Huang J.F.., Pain B., Wu S.C., 2019. Poult Sci. (98),1820-1832.

Dimitrov L., Pedersen D., Ching K.H., Yi H., Collarini E.J., Izquierdo S., van de Lavoir M.C., Leighton P.A.., 2016. PLoS One., (11),e0154303

Ducos A., Bed'hom B., Acloque H., Pain, B., 2018. INRA Prod. Anim., 30, 3–18

Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J.A., Charpentier E., 2012. Science., (337),816-21

Jlali M., Graulet B., Chauveau-Duriot B., Godet E., Praud C., Nunes C.S, Le Bihan-Duval E., Berri C., Duclos M.J., 2014. Br J Nutr., (111),2079-88

Kim GD, Lee JH, Song S, Kim SW, Han JS, Shin SP, Park BC, Park TS., 2020. FASEB J. 34(4):5688-5696.

Komor, A. C., Badran, A. H. & Liu, D. R., 2017. Cell 168, 20–36

Lázár B., Molnár M., Sztán N., Végi B., Drobnyák Á., Tóth R., Tokodyné Szabadi N., McGrew M.J., Gócza E., Patakiné Várkonyi E., 2021. Poult Sci, (100),101207

Le Bihan-Duval E., Nadaf J, Berri C., Pitel F., Graulet B., Godet E., Leroux S.Y., Demeure O., Lagarrigue S., Duby C., Cogburn L.A., Beaumont C.M., Duclos M.J., 2011., PLoS One, (7), e14825

Lee H.J., Yoon J.W., Jung K.M., Kim Y.M., Park J.S., Lee K.Y., Park K.J., Hwang Y.S., Park Y.H., Rengaraj D., Han J.Y.., 2019. FASEB J., (33),8519-8529

Liu C., Chang I.K., Khazanehdari K.A., Thomas S., Varghese P., Baskar V., Alkhatib R., Li W., Kinne J., McGrew M.J., Wernery U., 2017. Biol Reprod. (96), 686-693

Macdonald, J., Glover, J.D., Taylor, L., Sang, H.M. & McGrew M.J., 2010. PloS one (5), e15518.McGrew M.J., Sherman A., Ellard F.M., Lillico S.G., Gilhooley H.J., Kingsman A.J., Mitrophanous K.A., Sang H., 2004. EMBO Rep., (5),728-33.

Molnár M., Lázár B., Sztán N., Végi B., Drobnyák Á., Tóth R., Liptói K., Marosán M., Gócza E., Nandi S., McGrew M.J., Várkonyi E.P., 2019. Sci Rep. (9):14284.

Nakamura, Y., Kagami, H. & Tagami, T., 2013. Dev Growth Differ. (55), 20-40.

Nandi S., Whyte J., Taylor L., Sherman A., Nair V., Kaiser P. and McGrew M.J., 2016. Poult Sci., (95), 1905-11.

Oishi I., Yoshii K., Miyahara D., Kagami H., Tagami T., 2016. Sci Rep., (6), 23980

Oishi I., Yoshii K., Miyahara D., Tagami T., 2018. Sci Rep., (8),10203

Panda S.K., McGrew M.J., 2021. Lab Anim., (10), 23677221998400.

Park T.S., Park J., Lee J.H., Park J.W., Park B.C., 2019. FASEB J., (33) ,1188-1198

Praud C., Al Ahmadieh S., Voldoire E., Le Vern Y., Godet E., Couroussé N., Graulet B., Le Bihan Duval E., Berri C., Duclos M.J., 2017. Exp Cell Res.,(358),:140-146

Soler L., Alves S., Brionne A., Jacques A., Guérin V., Cherif-Feildel M., Combes-Soia L., Fouchécourt S., Thélie A., Blesbois E., McGrew M.J., Labas V., Govoroun M.S., 2021. Sci Rep., (11),19236

Song Y., Duraisamy S, Ali J, Kizhakkayil J., Jacob V.D., Mohammed M.A., Eltigani M.A., Amisetty S., Shukla M.K., Etches R.J. and de Lavoir M.C., 2014. Biol Reprod., (90), 15, 1-8

Taylor L., Carlson D.F., Nandi S., Sherman A., Fahrenkrug S.C., McGrew M.J., 2017. Development. Mar, 928-934.

Tsunekawa N., Naito M., Sakai Y., Nishida T., Noce T., 2000. Development. (12), 2741-50.

van de Lavoir M.C., Diamond J.H., Leighton P.A, Mather-Love C., Heyer B.S., Bradshaw R., Kerchner A., Hooi L.T., Gessaro T.M., Swanberg S.E., Delany M.E. and Etches R.J., 2006. Nature, (441), 766-9.

Yang, H., Wang, H., Jaenisch, R., 2014. Nat. Protoc., (9), 1956–1968

Zhang, F., 2019. Q. Rev. Biophys., (52), e6

Whyte J., Glover J.D., Woodcock M., Brzeszczynska J., Taylor L., Sherman A., Kaiser P. and McGrew M.J., 2015. Stem Cell Reports., (5), 1171-1182.

Whyte J., Blesbois E., and McGrew M.J., 2016. In : Poultry sciences symposium, (31) (CABI Publishing edit), UK, pp214.

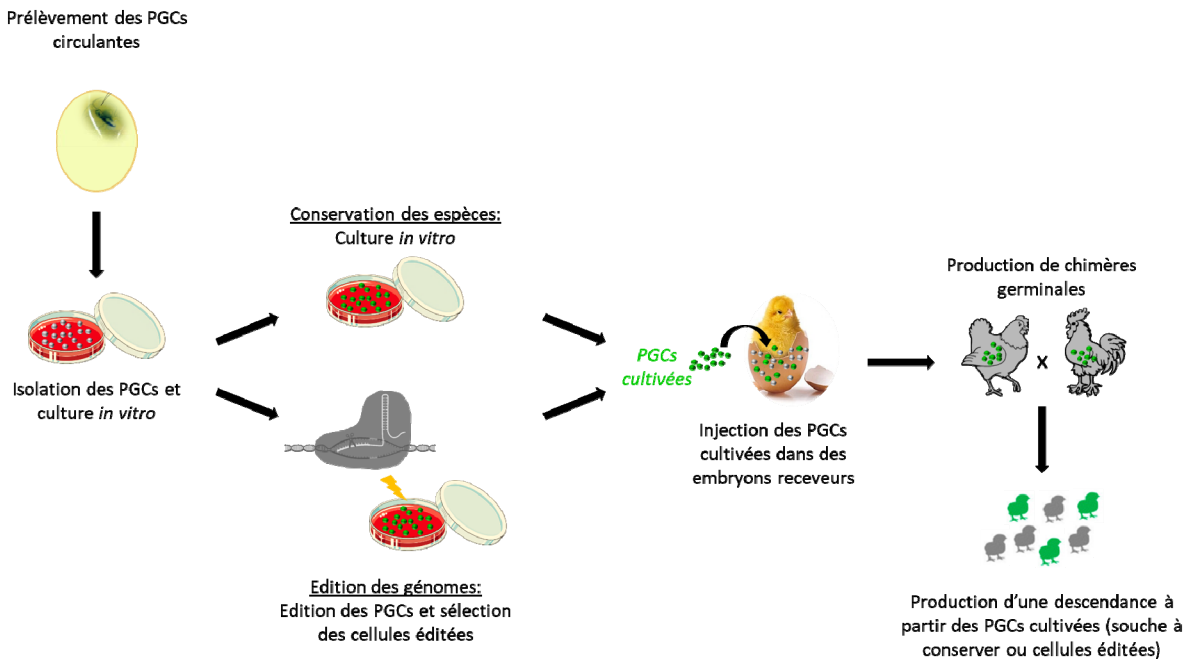
Woodcock M.E., Idoko-Akoh A. and McGrew M.J., 2017. Mamm Genome, (28), 315-323.

Woodcock M.E., Gheyas A.A., Mason A.S., Nandi S., Taylor L., Sherman A., Smith J., Burt D.W., Hawken R. and McGrew M.J., 2019. Proc Natl Acad Sci U S A, (116), 20930-20937.

Tableau 1. Exemples d'utilisation de l'édition du génome chez le poulet

Objectifs	Phenotype	Réference
KO inductible du gène iCaspase	Stérilité inductible chez les deux sexes	Ballantyne et al., 2021
KO du gène myostatine	Augmentation de la masse musculaire	Kim et al., 2020
Deletion W38 dans Na+/H+ exchanger type 1	Résistance au virus leucémogène (sous-groupe J)	Koslová et al., 2020
KI de la GFP sur le chromosome Z	Expression de la GFP pour du sexage	Lee et al., 2019
KO du gène G0/G1 switch gene 2	Réduction du dépôt de gras abdominal	Park et al., 2019
KI de l'interferon β humain dans le locus de l'ovalbumine	Production de l'interféron β humain dans le blanc d'oeuf	Oishi et al., 2018
KO de la région variable de la chaine lourde de l'immunoglobuline	Insertion du site loxP dans la région VH	Dimitrov et al., 2016
KO du gène ovomucoïde	Mutation du gène ovomucoïde	Oishi et al., 2016
KO du gène DEAD-box helicase 4	Stérilité femelle	Taylor et al., 2017
KO du gène ovalbumine	Mutation du gène ovalbumine	Park et al., 2014
KO de la chaine légère de l'immunoglobuline	Niveau faible des anticorps et des cellules périphérique B	Schusser et al., 2016
KO du segment J de la chaine lourde de l'immunoglobuline	Suppression des anticorps et cellules périphérique B	Schusser et al., 2013

Figure 1. En pratique, l'utilisation des PGCs pour la conservation des espèces et l'édition du génome chez le poulet



SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Communications orales

LE ROLE DE LA POUSSIERE COMME VEHICULE ET MATRICE DE DETECTION DES VIRUS H5N8 HAUTEMENT PATHOGENES (CLADE 2.3.4.4B) DANS LES ELEVAGES AVICOLES FRANÇAIS EN 2021

Filaire Fabien[1,2], Lebre Laetitia[1], Foret-Lucas Charlotte[1], Vergne Timothée[1], Patrick Daniel[3], Lelièvre Aurélie[4], De Barros Antoine[1], Jbenyeni Adam[1], Bolon Pierrick[1], Paul Mathilde[1], Croville Guillaume[1] et Guérin Jean-Luc[1]

[1]UMR IHAP, ENVT, INRAE, Université de Toulouse, Toulouse, France
[2]THESEO France, Groupe LanXess, Laval, France,
[3]Laboratoire Pyrénées Landes LPL, Mont-de-Marsan, France,
[4]SOCSA-40, Amou, Frances
fabien.filaire@envt.fr

RÉSUMÉ

Au cours de l'hiver 2020-2021, la France a déclaré 492 foyers d'influenza aviaire H5N8 hautement pathogène (HP), majoritairement localisés dans le sud-ouest. Cette nouvelle épizootie rappelait celle de 2016-2017 et soulevait des questions principalement liées aux modalités de transmission du virus et aux stratégies de détection précoce des foyers pour endiguer la dynamique épizootique.

Si l'introduction initiale du virus dans les élevages en France est attribuée à l'avifaune sauvage, les modes de transmissions inter- et intra-élevages sont encore mal connus et donc mal maîtrisés. Pour documenter les modalités de transmission du virus, et éventuellement développer de nouvelles stratégies de surveillance, des prélèvements environnementaux ont été réalisés dans des élevages infectés par le virus H5N8 HP ou suspect de l'être. Ainsi, entre décembre 2020 et avril 2021, des prélèvements de poussières et aérosols ont été réalisés dans 63 élevages du sud-ouest en parallèle d'écouvillons réalisés dans le cadre de la surveillance officielle. L'ensemble de ces prélèvements ont été analysés à l'aide de méthodes officielles et les données générées ont été analysées statistiquement par modèle bayésien à classe latente afin de comparer les performances de sensibilité et spécificité des méthodes de prélèvement. Les données obtenues suggèrent de très bonnes performances de détectabilité des prélèvements environnementaux (poussières et aérosols), par comparaison avec les écouvillons trachéaux, en particulier dans les cas d'infections sans expression de signes cliniques, autrement dit, aux phases précoces d'infection. Au-delà des potentielles applications pour la surveillance, ces résultats confirment que la poussière des élevages peut être considérée comme un véhicule significatif de transmission du virus influenza H5N8.

ABSTRACT

Dust as a vehicle and surveillance sample of H5N8 highly pathogenic avian influenza virus (clade 2.3.4.4b) in poultry farms, France, 2021.

During the winter 2020-2021, 492 avian influenza H5N8 highly pathogenic (AIHP) outbreaks have been reported in France, mostly in the south-west. After the 2016-2017 epizootic, this novel episode raised numerous questions regarding viral transmission routes and the development of new methods for early detection of outbreaks to contain the spread of the disease.

Even though the virus entry in French farms is assigned to wild aquatic birds, both inter- and intra- animal houses transmission routes are still poorly understood and ultimately poorly handled. Environmental samples from H5N8 HP infected or suspicious animal houses were realized in order to assess the virus transmission modality and to, potentially, develop new surveillance strategies. So, from December 2020 to April 2021, 63 HPAI-infected or suspicious poultry houses were identified for dust and aerosol sampling in complement to tracheal swabs realized for official surveillance. Every samples were analyzed based on official molecular methods and the results were analyzed using a latent class bayesian model to investigate the sampling methods sensitivity and specificity. Altogether, the data suggest that environmental sampling (dust and aerosols) shows a higher sensitivity compared to tracheal swabs, especially when no clinical signs were observed within the flocks. In other words, environmental sampling present higher sensitivity for early detection of the H5N8 HP virus. Beyond their potential surveillance application, environmental samples confirmed that dust may play a major role as H5N8 HP virus vehicle.

INTRODUCTION

L'influenza aviaire est une maladie virale causée par les virus influenza A, virus à ARN simple brin à polarité négative, appartenant à la famille des *Orthomyxoviridae*. Les oiseaux aquatiques sauvages sont considérés comme le réservoir de ces virus et sont à l'origine de panzooties lors des migrations saisonnières (1). Les sous-types hautement pathogènes (HP) sont à l'origine des épizooties caractérisées par de très forts taux de mortalité chez les oiseaux sauvages et domestiques, générant des pertes économiques majeures pour l'industrie aviaire. La diffusion périodique de ces virus à risque zoonotique conduit à de nombreux questionnement de santé public.

Au cours de l'hiver 2020-2021, un virus H5N8 HP appartenant au clade 2.3.4.4b (A/goose/Guangdong/1/1996) a été responsable de centaines de foyers en Europe (2,3). Entre le 5 décembre 2020 et le 3 mai 2021, la France, avec 492 élevages foyers, a été le pays le plus impacté, en particulier la filière palmipède à foie gras. Malgré un renforcement des activités de surveillance, le virus H5N8 HP a circulé rapidement, défiant les mesures de surveillance et de contrôle de l'épidémie. La stratégie de surveillance et de détection officielle mise en place au niveau Européen et national, basée sur la réalisation d'écouvillons trachéaux et cloacaux (4,5), est laborieuse et fait appel à des personnels entrainés, ce qui complique son application à large échelle. Ces difficultés d'application, en situation d'épizootie majeure, révèlent le besoin urgent de nouvelles méthodes de surveillance. Dans le même temps, les modèles épidémiologiques évoquent que la transmission du virus intra-élevage est très rapide, suggérant un rôle important de l'environnement comme source de contamination pour les élevages voisins (6). La propagation de virus influenza aviaire HP (IAHP) peut se faire *via* les aérosols ou « fomites » transportés par des hommes ou animaux. Les « fomites » correspondent à des débris de plumes, particules fécales et, plus largement, la poussière (7,8). La poussière est connue pour être massivement produite dans les élevages aviaires par mise en suspension de particules venant de litières, aliments, fèces, peau et plumes des animaux (9). Ces particules peuvent servir de véhicule pour la propagation de bactéries et virus, et sont classifiées comme inhalable, thoracique ou respirable en fonction de leur taille, à savoir respectivement <100µm, <10µm et <4µm de diamètre (9). Dans les élevages avicoles, les particules de poussières sont majoritairement classifiées comme non-respirables (>4µm) (9).

Au cours de cette étude, nous avons évalué le rôle de la poussière comme véhicule des virus H5N8 HP de clade 2.3.4.4b, et évalué si la collecte de poussières et d'aérosols peut servir de stratégie alternative aux méthodes d'écouvillonnages officielles pour la surveillance des virus HP dans les élevages.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Prélèvements en élevages

La poussière a systématiquement été collectée sur les murs des bâtiments inclus dans cette étude et dans 51 des bâtiments la poussière des mangeoires a également été collectée. La collecte des poussières a été réalisée grâce à des chiffonnettes sèches. Lors de la collecte des poussières, une attention particulière a été porté sur l'ensemble des éléments pouvant inhiber la PCR comme les débris d'aliment, les fèces ou la litière afin de les éviter.
Deux collecteurs d'aérosols ont été simultanément utilisés dans 19 bâtiments, au centre des bâtiments à 2 mètres l'un de l'autre pour éviter toutes interférences. Il s'agit du Coriolis Compact® (Bertin Technologies) et du 2-phases cyclonique bioaérosols collecteur 251 (BC 251) développé par l'institut national de la santé et de la sécurité professionnelle (NIOSH). Le NIOSH BC 251 a la particularité de séparer les particules en 3 fractions en fonction de la taille : >4µm (fraction 1), entre 1 et 4µm de diamètre (fraction 2) et <1µm (fraction 3).
Ces deux collecteurs ont été utilisés en accord avec les règles transmises par les concepteurs.
Des écouvillons trachéaux ont été réalisés sur 20 individus de chaque bâtiment.
L'ensemble des prélèvements ont été transportés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse puis stockés à 4°C avant utilisation.
Toutes les procédures faites en élevage ainsi que le transport des échantillons ont été réalisées en strict accord avec les procédures et règles de biosécurité, avec autorisation et supervision officielle des services vétérinaires.

1.2. Analyses moléculaires

Après reconditionnement des échantillons, les ARNs totaux ont été extraits grâce au kit commercial ID Gene™ Mag Fast Extraction Kit (ID-vet). A partir de ces extractions, une RT-qPCR ciblant le gène M des virus influenza A a été réalisée, suivie d'une RT-qPCR ciblant le sous-type H5 pour les échantillons positifs.

1.3. Isolement viral

5 bâtiments présentant des RT-qPCR positives au sous-type H5 ont été sélectionnés sur la base des valeurs de Ct des échantillons pour isoler les virus. L'isolement a été fait sur des œufs embryonnés EOPS achetés à l'INRAE, PFIE (Nouzilly, France). Les œufs ont été incubés de 9 à 11 jours à 37°C. L'inoculation des œufs s'est faite en trois réplicas à différentes concentrations en fonction de la méthode

de prélèvement. Toutes les dilutions ont été faites avec du PBS stérile 1X avec pénicilline (1000 U/mL) et streptomycine (1mg/mL). Après l'inoculation des œufs par 150µL des différentes concentrations, les œufs ont été incubés pendant 48h à 37°C avant d'être laissés 12h à 4°C.
Après les 12h à 4°C, le liquide allantoïque de chaque œuf a été collecté et un titrage par hémagglutination a été réalisé dans une plaque 96 puits à fond rond. Une RT-qPCR ciblant le sous-type H5 a été réalisée comme contrôle sur l'ensemble des prélèvements en utilisant le kit Influenza H5/H7 Triplex (ID-Vet).
Tous les prélèvements négatifs ont été testés sur deux nouveaux passages sur œufs dans les mêmes conditions.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Cette étude a été menée entre décembre 2020 et avril 2021 dans 63 bâtiments situés dans 4 départements, hautement impactés par l'épizootie H5N8 HP du sud-ouest de la France. A partir de rapports quotidiens, des élevages foyers et des élevages en liens étroits (proximité géographique, liens de filières, liens épidémiologique…) ont été sélectionnés pour être inclus dans l'étude. La sélection avait pour but de choisir une diversité de stade infectieux de phases très précoces, sans signes cliniques ni mortalité, à des phases tardives associées à de forts taux de mortalité. En particulier, les bâtiments avec des animaux asymptomatiques ont été favorisés pour investiguer la dispersion du virus lors des temps précoces de l'infection et ainsi évaluer les performances de l'analyse des poussières pour la surveillance des phases précoces des infections par virus IAHP. Également différentes espèces ont été inclus : canard (48), poulets (12), cailles (2) et oie (1).

L'ensemble des prélèvements environnementaux (poussières et aérosols) ainsi que les écouvillons trachéaux ont été analysés par rRT-qPCR ciblant les gènes M puis H5. La distribution des Ct de chaque type d'échantillon a été comparé à partir 'raincloud plot' et 'boxplot model' (Figure 1A et 1B). De manière générale, les Ct étaient plus faibles pour les écouvillons trachéaux (~25,2) que pour les poussières (~28,6). Pour les aérosols, le Coriolis démontre un nombre supérieur de résultats positifs (Ct <40) que le NIOSH. En comparant les différentes fractions du NIOSH aux résultats du Coriolis, il apparaît clairement que l'ARN viral est plus facilement détectable dans les plus grosses particules (Figure 1C). Ces résultats suggèrent que le virus H5N8 HP est associé aux larges particules de poussière qui peuvent jouer un rôle de véhicule pour la dispersion virale dans l'environnement.

Afin d'estimer la sensibilité des 4 différentes méthodes de prélèvements (écouvillons trachéaux, chiffonnettes, Coriolis et NIOSH) dans des bâtiments avec ou sans signes cliniques, une analyse par classe latente a été réalisée permettant de comparer des tests de détection indépendants sans qu'une méthode consensus n'ait été établie au préalable (11). Les résultats du modèle suggèrent que les différentes méthodes de prélèvement ont une sensibilité similaire dans des bâtiments où les animaux présentent des signes cliniques. Toutefois, les prélèvements de poussière et d'aérosols présentent une meilleure sensibilité dans des lots sans signes cliniques ou en d'autres termes, dans les phases précoces de l'infection (Figure 1C).

Enfin, afin d'investiguer le caractère infectieux des poussières et aérosols, 25 échantillons (écouvillons trachéaux, poussières et aérosols) prélevés dans 5 bâtiments ont été analysés par isolement viral sur œufs embryonnés. 12 échantillons ont été testés positifs, confirmant l'infectiosité des poussières et aérosols mais aussi permettant de mettre en avant ces nouvelles matrices pour des isolements de virus.

CONCLUSION

Cette étude avait pour objectif d'évaluer, en conditions terrain, si les virus influenza aviaire HP pouvait être véhiculés par la poussière et de comparer la poussière et les aérosols aux écouvillons conventionnels comme matrice de détection moléculaire. La poussière a été collectée en utilisant des chiffonnettes et deux collecteurs d'aérosols au cours de l'épizootie H5N8 HP en France. Les méthodes standards de détection moléculaire ont révélé que de fortes concentrations d'ARN viral étaient détectables dès les phases préliminaires de l'infection. De plus, le fractionnement, par taille, des aérosols a montré que les fortes charges d'ARN viral, mais aussi de particules infectieuses étaient associées aux plus larges fractions (>4µm) qui sont les plus faciles à collecter et à utiliser pour une détection moléculaire. Les observations faites au cours de cette étude ne peuvent pas être reproduites lors d'expérimentation animale en animalerie. En effet, les conditions d'hébergement des animaux imposent, pour des questions d'éthique et de biosécurité, des caractéristiques qui diminuent drastiquement la quantité de poussière. Il est donc difficile de comparer valablement ces conditions expérimentales à celles des élevages.

De travaux de recherche récents sur les voies de transmission des virus influenza ont relevé que les particules d'origine non-respiratoire sont plus à même d'être responsable d'infections que les gouttelettes ou « fomites » (7). En particulier, des aérosols infectieux, générés à partir d'objets inertes manipulés par des hommes ou au cours de mouvements d'animaux peuvent aboutir de nouvelles infections. Connaissant

cette capacité de véhicule des particules infectieuses et l'omniprésence des virus en élevage aviaire (9), la poussière peut jouer un rôle majeur de moyen de transmission et de dispersion environnementale. Ces recherches suggèrent que les protocoles de biosécurité doivent être adaptés pour massivement limiter la dispersion de poussière, notamment à partir de du matériel agricole. Plus spécifiquement, la poussière et les aérosols collectés respectivement sur surfaces inertes et avec collecteur à haut débit montrent une plus grande sensibilité pour la détection précoce du virus. Toutefois, la poussière sur surface inerte montre une plus grande sensibilité de détection de génomes viraux que la collecte d'aérosols. Ceci peut s'expliquer par l'accumulation des poussières et donc de particules infectieuses dans le temps.

La plus grande sensibilité des prélèvements environnementaux, comparés aux écouvillons est susceptible d'être due à la dynamique d'infection des lots. En effet, au cours des phases préliminaires d'infections, peu d'individus sont infectieux, réduisant la probabilité de détection d'individus infectés par écouvillons (6). Bien que la technique officielle d'écouvillonnage présente une bonne sensibilité de détection, similaire aux aérosols, cette stratégie est longue, laborieuse et plus chère, ce qui peut limiter la rapide détection du virus dans une population donnée.

Enfin, les chiffonnettes sont peu couteuses, facile à réaliser et non-invasive rendant cette méthode plus pratique que les écouvillons trachéaux ou cloacaux. Les prélèvements de poussière par chiffonnette apparaissent donc comme une stratégie de surveillance performante et pourrait permettre d'accélérer les délais de réponse diminuant la rapidité de propagation du virus dans les élevages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

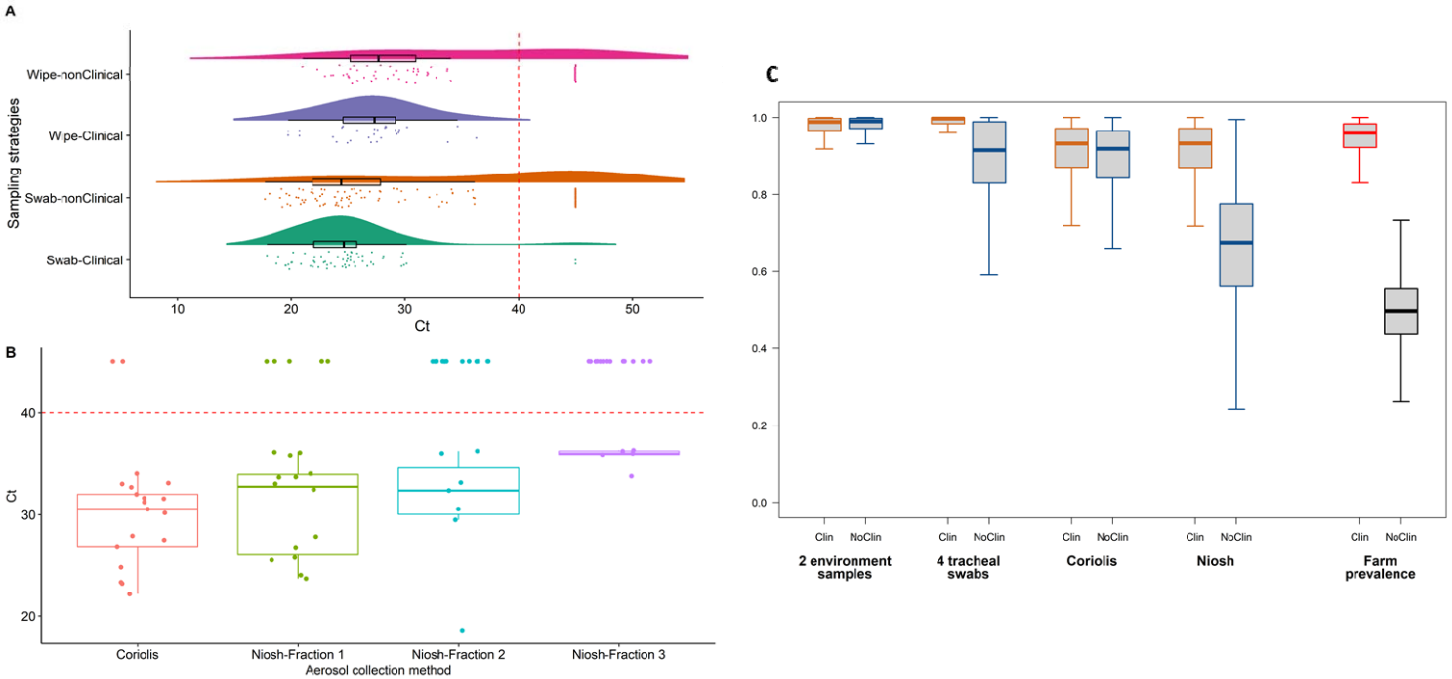
1. Munster V, Baas C, Lexmond P, Waldenstrom J, Wallensten A, Fransson T, Rimmelzwaan G, Beyer W, Schutten M, Olsen B, Osterhaus A, Fouchier R, 2007. In: PLoS Pathog 3:e61.
2. Lewis N, Banyard A, Whittard E, Karibayev T, Al Kafagi T, Chvala I, Byrne A, Meruyert (Akberovna) S, King J, Harder T, Grund C, Essen S, Reid S, Brouwer A,. Zinyakov N,Tegzhanov A, Irza V, Pohlmann A, Beer M, Fouchier R,Akhmetzhan (Akievich) S, Brown I, 2021. In: Emerf Microbes Infect 10(1), pp.148-151.
3. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control and European Union Reference Laboratory for Avian Influenza., 2020. In: EFSA 18, e06270.
4. World Organization for Animal Health (OIE), 2004. In: https ://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Healthstandards/tahm/3.03.04_AI.pdf.
5. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (EFSA AHAW Panel), Nielsen S, Alvarez J, Bicout D, Calistri P, Depner K, Drewe J, Garin-Bastuji B, Gonzales Rojas J, Schmidt C, Herskin M, Michel V, Chueca M, Pasquali P, Roberts H, Sihvonen L, Spoolder H, Stahl K, Velarde Calvo A,Viltrop A, Winckler C, De Clercq K,Klement E, Stegeman JA, Gubbins S, Antoniou SE, Broglia A,Van der Stede Y, Zancanaro G, Aznar I, 2021. In: EFSA J19(1).
6. Vergne T, Gubbins S, Guinat C, Bauzile B, Delpont M, Chakraborty D, Gruson H,Roche B, Andraud M, Paul M, Guérin JL, 2021. In: Transbound Emerg Dis 11(1).
7. Spekreijse D, Bouma A, Koch G, Stegeman A, 2013. In: Influenza Other Respir Viruses7(2), 132–138.
8. Yang Zhao, AndrÉ J. A. Aarnink, Mart C. M. De Jong & Peter W. G. Groot Koerkamp 2014. In : Environ Sci Techno l44(10), pp.1071-1128.
9. Carrique-Mas JJ, Breslin M, Sayers AR, McLaren I, Arnold M, Davies R, 2008. In: Appl Microbiol .47(6), pp.514-519.
10. Gaide N, Foret□Lucas C, Figueroa T, Vergne T, Lucas MN, Robertet L, Souvestre M, Croville G, Le Loc'h G, Delverdier M, Guérin JL, 2021. In: Sci Rep 11(1).
11. Beerens N,Germeraad EA, Venema S, Verheij E, Pritz-Verschuren S, Gonzales JL, 2021. In: Emerg Microbes Infect 10(1), pp.97-108.
12. Raynor PC, Adesina A, .Aboubakr HA, Yang M, Torremorell M, Goyal MS, 2021. In: PLoS One 16(1), p.e0244977.

Tableau 1. Isolement viral sur œufs embryonnés réalisé sur 5 des 63 bâtiments de volailles prélevés lors de cette étude.

Prélèvement	Bâtiment 1		Bâtiment 2		Bâtiment 3		Bâtiment 4		Bâtiment 5	
	C_t	IV	C_t	IV	C_t	IV	C_t	IV	C_t	IV
ET	25	Pos	20.7	Pos	21.9	Pos	18.9	Pos	20	Pos
Poussière 1	25.8	Neg	25.1	Neg	27.4	Pos	29.5	Pos	24,2	Pos
Poussière 2	27.5	Pos	25.5	Neg	30.1	Pos	28.3	Pos	23	Pos
Coriolis	32	Neg	33.6	Neg	27.8	Neg	25.8	Pos	26,9	Pos
N1	34	Neg	33.6	Neg	27.8	Neg	25.8	Pos	23,7	Pos
N2	Neg	NR	36	Neg	32.4	Neg	33.1	Neg	18,6	Pos
N3	Neg	NR	Neg	NR	36.3	Neg	Neg	NR	Neg	NR

Abréviation : Pos = Positif, Neg = Négatif, NR = Non réalisé, N1 = NIOSH Fraction 1, N2 = NIOSH Fraction 2, N3 = NIOSH Fraction 3, Ct= Cycle Threshold, IV = Isolement viral

Figure 1. Représentation graphique de la distribution de valeurs de Ct en fonction des prélèvements réalisés ainsi que la prévalence de la présence du virus H5N8 HP dans les élevages. A, représentation raincloud plot de la valeur des Ct selon le mode de prélèvement (chiffonnettes ou écouvillons trachéaux) et la présence, ou non, de signes cliniques dans le bâtiment d'élevage. B, distribution de la valeur de Ct des prélèvements d'aérosols. Les points au-dessus de 40, sont dans les deux représentations des échantillons négatifs. C, prévalence du virus dans les élevages et sensibilité des techniques de prélèvements (chiffonnettes, écouvillons trachéaux, Coriolis, NIOSH BC 251) selon la présence, ou non, de signes cliniques.



PRELEVER L'AIR A LA PLACE DES ECOUVILLONNAGES POUR DETECTER LE VIRUS DE L'INFLUENZA AVIAIRE CHEZ LE CANARD MULARD

Keïta Alassane[1], Niqueux Eric[1], Allée Chantal[1], Ogor Katell[1], Schmitz Audrey[1], Amelot Michel[1], Courtois David[1], Le Coq Thierry[1], Thomas Rodolphe[1], Grasland Béatrice[1], Le Bouquin Sophie[1], Scoizec Axelle[1]

Anses – Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, BP 53, 22440 Ploufragan,
Alassane.keita@anses.fr

RÉSUMÉ

Cette étude évalue la détection et la quantification du virus de l'influenza aviaire (VIA) dans des bioaéerosols en animalerie confinée. Le but était d'évaluer un nouveau collecteur (Biodosi ND, codé BDS, CEA Tech) par rapport à un collecteur témoin (Coriolis ND, codé COR, Bertin Technologies). Des canards mulards ont été infectés expérimentalement par la souche de VIA A/decoy duck/France/161105a/2016 (H5N8) hautement pathogène, avec $4{,}6x10^6$ DIE50 (titre viral) dans 100µL d'inoculum par animal. L'excrétion virale a été suivie sur écouvillonnage individuel oropharyngé et cloacal : à J-3 (J0 = inoculation) puis à J1, J2, J3, J4, J7, J11 et J14. Aux mêmes dates, des échantillons d'air ont été prélevés par le COR (cyclonique, peu maniable) et par le BDS (portatif, autonome, basé sur la précipitation électrostatique). Pour BDS, deux protocoles ont été utilisés avec une mesure dans l'air ambiant de l'animalerie et une mesure dans la zone de respiration de deux canards placés spécifiquement dans une caisse contenant l'échantillonneur. Le temps de prélèvement variait de 10 à 60 min, selon le protocole et le jour de prélèvement, un prélèvement plus long étant réalisé à partir de J7 pour anticiper la diminution de l'excrétion virale. Les prélèvements ont été analysés par RT-PCR temps réel et la viabilité du virus vérifiée sur œufs embryonnés de poules EOPS. A partir des écouvillons, il y avait 100 % d'animaux excréteurs de J1 à J9, 70 % à J11 et 30 % à J14. Pendant la période de forte excrétion (J2 à J4), pour COR et BDS, tous les échantillons d'air étaient positifs, quantifiables et la viabilité du virus a été démontrée. De J7 à J14, bien que les écouvillons soient toujours positifs, les échantillons d'air étaient souvent négatifs, le seuil de détection n'étant pas toujours atteint malgré une augmentation du temps de prélèvement. Pour le virus testé, l'échantillonnage de l'air pourrait ainsi être un moyen prometteur, non invasif et plus respectueux du bien-être pour la surveillance de l'excrétion virale. Cependant, il semble moins sensible que le prélèvement par écouvillonnage.

ABSTRACT

Could air sampling be a substitute for individual oropharyngeal and cloacal swabs on live animals to detect avian influenza virus in Mule ducks?

This study assessed the ability to detect and quantify avian Influenza A virus (AIAV) in bioaerosols in confined facility. The aim was to evaluate a new collector (Biodosi®, coded BDS, CEA Tech) compared to a control collector (Coriolis®, coded COR, Bertin Technologies). Mule ducks were experimentally infected by ocular instillation of high pathogenicity AIAV H5N8 A/decoy duck/France/161105a/2016, with $4.6\ 10^6$ EID50 in 100 µL per animal. Virus shedding was monitored on individual oropharyngeal and cloacal swabs: on D-3 (D being the day of infection) and then 1, 2, 3, 4, 7, 9, 11 and 14 days post-infection (dpi). On the same days as swab sampling, bioaerosols were collected using COR (cyclonic, unwieldy) and BDS (portable, self-contained and based on electrostatic precipitation). For BDS two air sampling protocols were used: in the facility and at the breathing zone of two ducks that were placed in a solid-panel crate containing the sampler. Sampling time varied from 10 to 60 min, depending on sampling protocol and day, longer sampling being used between 7 to 14 dpi to anticipate the viral excretion decrease. Samples were analysed by real time RT-PCR and viability of the virus was checked on SPF hen embryonated eggs. From swab samples, there were 100%, 70% and 30% excreting animals from 1 to 9, 11 and 14 dpi, respectively. During the period of high viral excretion (2 to 4 dpi), all air samples were positive and quantifiable for COR and BDS. In addition, viability of the virus during this period was demonstrated. From 7 to 14 dpi, the detection threshold was not always reached despite an increase in sampling time, although the animals still excreted the virus from swab samples. For the virus tested, air sampling could be a promising way to carry out non-invasive and welfare-friendly viral shedding monitoring. However, it seemed less sensitive than individual swabs.

INTRODUCTION

De nombreux agents pathogènes viraux ou bactériens, responsables d'infections en élevages, peuvent être transmis par l'air (Spekreijse et al., 2013). Actuellement, la détection de ces agents pathogènes est souvent réalisée à partir de prélèvements sur animaux vivants. Ils sont réalisés par des techniques de référence (e.g. prises de sang, écouvillons) souvent invasives, chronophages, parfois douloureuses pour les animaux et éprouvantes ou parfois dangereuses pour les préleveurs (vétérinaires, éleveurs et salariés d'élevage). La collecte d'air à l'échelle d'un individu, d'un groupe restreint d'animaux ou d'un lot constitue une matrice innovante pour un diagnostic plus facile, rapide et respectueux du bien-être animal. Toutefois, la recherche d'agents pathogènes dans l'air en élevage est rarement pratiquée car compliquée à mettre en œuvre compte tenu du manque d'équipements adaptés et de protocoles validés quant au mode de prélèvement et à l'analyse des échantillons obtenus.
Dans le cadre de l'évaluation d'un dispositif de collecte innovant, un projet a été conduit sur la collecte et la caractérisation d'un virus influenza aviaire hautement pathogène. Le collecteur à tester (Biodosi ND, codé BDS, CEA Tech) a été comparé à un collecteur de référence (Coriolis ND, codé, COR, Bertin Technologies). Cette expérimentation avait pour objectif la détection et la quantification de virus influenza aviaire hautement pathogène H5N8 dans des prélèvements d'air avec les échantillonneurs COR et BDS en conditions expérimentales.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Le collecteur de particules

Le collecteur BDS est portatif, pèse environ 500g, silencieux et autonome (autonomie d'une heure sur batterie) avec un débit d'aspiration de 10 litres/min. Le principe est basé sur une collecte de nano particules (≤10 nm) sur une bague métallique par un système de précipitation électrostatique sans utilisation de pièce mécanique ni de ventilateur. Le collecteur emploie une haute tension pour collecter les particules aéroportées et aspirer l'air ambiant. Les particules ainsi collectées peuvent ensuite être récupérées après élution dans un milieu liquide approprié pour la recherche des agents infectieux ciblés. Le collecteur COR a été utilisé comme témoin, car déjà utilisé pour la détection de virus influenza (Scoizec et al., 2018). Mais il est peu maniable, bruyant et contient des pièces mécaniques, à la différence du BDS.

1.2. Phase expérimentale

Animaux
10 canards mulards mâles ont été élevés dans les animaleries de l'Anses Ploufragan de un jour à 6 semaines d'âge, âge auquel ils ont été inoculés avec une souche H5N8 HP A/decoy duck/France/161105a/2016_2.1a, par instillation intra-oculaire à la dose de $4{,}6.10^6$ DIE50 par sujet, sous un volume de 100 µl (J0 = Inoculation).

Prélèvements d'air
Les prélèvements d'air ont été réalisés à J-3, J+1, J+2, J+3, J+4, J+7, J+9, J+11 et J+14
Collecteur COR
L'échantillonneur était placé dans la salle à 1 m du parquet de canards à 45 cm de hauteur, dans le flux d'air allant du parquet vers le point d'extraction d'air. Le débit d'aspiration était de 300L/min, 10 min/échantillon soit un échantillonnage de 3 m^3 collectés. Pour chaque prise d'échantillons, un cône contenant 10 mL de milieu MEM-H (Milieu minimum de Earl et Tampon Hepes) + 0.1% penicilline-streptomycine a été placé au niveau du cyclone de l'appareil. A J+1, J+4 et J+14, le prélèvement était répété trois fois d'affilée (cf tableau 1).

Collecteur BDS
En parallèle des prélèvements par COR, les prélèvements d'air par BDS ont été réalisés selon deux modalités, avec un débit d'aspiration de 10 litres/min pendant 10 min :
- Échantillonnage de l'air ambiant : l'air ambiant de la salle était collecté dans les mêmes conditions et aux mêmes dates que pour le COR (voir supra).
- Échantillonnage sur un groupe restreint de canards : deux canards étaient placés dans une caisse fermée en plastique avec des parois pleines comportant deux trous d'aération d'environ 75 cm^2. Le BDS, protégé par une petite cage métallique, était placé à l'intérieur de la caisse pour la réalisation du prélèvement.
A J+1 et J+4, jours de répétitions des prélèvements par COR, les prélèvements de 10 min sur caisse et air ambiant ont également été répétés trois fois. Une analyse rapide des prélèvements à J+1 a été faite. Compte tenu des résultats obtenus et pour s'assurer de la validité du choix de la durée de prélèvement par BDS, il a été choisi de porter la durée d'échantillonnage à 40 min sur l'air ambiant et 20 min sur caisse à partir de J+7 et de porter cette durée à 60 et 30 min respectivement, le jour restant de répétition des prélèvements par COR (J+14).

Prélèvements des animaux
Les 10 canards ont été prélevés individuellement selon la méthode classique : écouvillon oropharyngé et écouvillon cloacal. A J-3 par rapport à l'épreuve, puis à J+1, J+2, J+3, J+4, J+7, j+9, J+11 et J+14, c'est-à-dire selon le même calendrier que la réalisation des prélèvements d'air.

Analyses de laboratoire

Prélèvements par COR

Les échantillons ont été concentrés par centrifugation : 10 minutes à 4000 *g* à 4 °C, à l'aide du dispositif de filtration Amicon® Ultra-15 30K (Merck Millipore Ltd, Ireland), afin de récolter environ 1,5 mL d'échantillon concentré. L'ARN a ensuite été extrait, à l'aide du MagAttract Virus Mini kit pour extraction automatisée avec le M48 Biorobot (Qiagen) à partir de 100 µL d'échantillon concentré. 5 µL d'extrait d'ARN issus des 100 µL élués après extraction ont été testés par RT-PCR temps réel (rRT-PCR) ciblant la matrice gène M (détection du génome du virus IA de type A).

Des essais d'isolement ont été réalisés pour les échantillons concentrés correspondant au premier jour pour lequel les détections par rRT-PCR étaient positives pour l'ensemble des mesures (sous condition que la charge de génome viral détectée dans l'échantillon soit jugée suffisante, c'est-à-dire supérieure ou égale à 10^3 copies du gène cible / réaction), soit J+2.

Prélèvements par BDS

Les échantillons composés d'une bague de collecte en inox disposée dans 2mL de milieu MEM-H+ 5% de sérum de veau fœtal + 0.1% pénicilline-streptomycine ont été passés 30 secondes au vortex pour que les particules collectées électrostatiquement soient transférées dans le milieu. L'ARN a ensuite été extrait à partir de 100 µL issus de l'échantillon initial de 2mL, à l'aide du MagAttract Virus Mini kit pour extraction automatisée avec le M48 Biorobot (Qiagen). 5 µL d'extrait d'ARN issus du volume final de 100 µL élués après extraction ont été testés par rRT-PCR gène M. Le volume d'échantillon initial restant (2 mL-100 µL) a été conservé pour des essais d'isolement par ovoculture, à partir des échantillons correspondant au premier et au dernier jour pour lesquels une détection était positive (sous condition que la charge de génome viral détectée dans l'échantillon soit jugée suffisante, c'est-à-dire supérieure ou égale à 10^3 copies du gène cible / réaction). Ces jours correspondent à J+2 et à J+14.

Ecouvillons oropharyngés et cloacaux

Les écouvillons individuels sont repris, lysés et extraits comme décrit précédemment. Le génome du virus IA de type A est recherché par RT-PCR temps réel (rRT-PCR) ciblant la matrice gène M.

Quantification de l'ARN viral dans les échantillons d'air

Le nombre de copies de gènes M par mètre cube d'air est estimé à partir des valeurs brutes de Ct (cycle threshold) obtenues en rRT-PCR gène M, d'après une calibration obtenue par dilution sériée d'un ARN transcrit synthétique (correspondant au gène M cible) de concentration connue. Cette estimation quantitative n'est retenue que pour les valeurs supérieures ou égales à la limite de détection de la RT-PCR. En-dessous de cette valeur, seul le résultat qualitatif (détection du gène cible) est retenu.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'objectif de la présente étude était d'évaluer la détection et la quantification du virus de l'influenza aviaire par le BDS, en prenant comme témoin le COR, dispositif déjà utilisé dans certaines études (Scoizec et al., 2018). Le tableau 1 présente les résultats d'excrétion virale dans l'air ambiant et le tableau 2 pour les canards en caisse. En dehors de la phase de forte excrétion (J+2 à J+4), la détection par le BDS semble fluctuante. Ainsi, le seuil de détection n'était pas toujours atteint malgré un allongement de la durée de prélèvement en deuxième semaine après épreuve pour pallier à la diminution attendue du niveau de charge virale excrétée par le lot. Les concentrations mesurées dans l'air, lorsque le signal était suffisant pour les estimer, semblent comparables à celles mesurées par COR. Cependant, la détection par le BDS semble moins sensible que celle par le COR. Par exemple à J1, deux répétitions sur les trois réalisées montrent une quantification pour le COR versus une seule détection et pas de quantification pour le BDS.

Sur un groupe restreint d'animaux (caisse de deux canards)

Malgré un manque de répétabilité de la détection par le BDS (avec un échantillon de 100L) en démarrage d'excrétion (à J+1) et une non détection malgré une augmentation du volume prélevé (échantillon de 300L) en fin d'excrétion (à J+14), la capacité de détection du génome viral d'IA par le BDS sur l'air dans une caisse contenant un à deux canards excréteurs semble bonne même si le signal détecté ne permet pas toujours d'estimer les quantités présentes dans l'échantillon (limite de détection de la méthode). De plus, la détection du génome viral par écouvillonnage oropharyngé sur l'un des deux canards à J+14, pourrait ne pas correspondre à une réelle excrétion de virus infectieux par voie aérienne mais à une contamination de la zone oropharyngée par ingestion de matières virales présentes dans l'environnement (par exemple sur le plumage, l'aliment, l'eau de boisson, du fait de l'excrétion dans les jours précédents).

Essais d'isolement du virus

Des prélèvements collectés à J+2 avec le collecteur COR (air ambiant) et avec le collecteur BDS (deux modalités de collecte) ont permis de ré-isoler un agent hémagglutinant dès le premier passage sur œufs embryonnés de poules EOPS.

Les autres prélèvements analysés sont ceux du 14e jour post-épreuve (dernier point de prélèvement pour

lequel seul l'échantillon collecté à partir de l'air ambiant avec le BDS était détecté, avec un niveau de quantification de charge pouvant être retenu) et du 11e jour post-épreuve (point de prélèvement immédiatement antérieur, pour lequel les 2 modalités de collecte avec le BDS sont détectées, bien que les charges en génome viral soient inférieures au niveau minimal de quantification retenu). Les 3 échantillons testés (BDS dans l'air ambiant au 11e jour, BDS en caisse au 11e jour et BDS dans l'air ambiant au 14e jour) étaient négatifs après 2 passages successifs sur œufs embryonnés. Ces prélèvements n'ont donc pas permis d'isoler de virus.

CONCLUSION

La preuve de concept est faite quant à l'utilisation possible du collecteur BDS pour la détection et la caractérisation du virus recherché, malgré un débit d'aspiration beaucoup plus faible que pour le COR (10 litres/min pour le BDS versus 300 litres/min pour le COR). Il a cependant été noté un manque de répétabilité dans la détection avec le BDS qui pourrait peut-être être compensé par un allongement de la durée de collecte et/ou une augmentation du nombre d'animaux dans le cas de la collecte en caisse. Pour le BDS, on peut également noter un manque de sensibilité de la détection par rapport aux résultats des écouvillons.

Tableau 1 : détection et quantité d'ARN d'IA de type A dans les échantillons d'air prélevés sur l'air ambiant

Jour post épreuve	N° de la répétition	% d'animaux excréteurs[A]	COR – MEM H		BDS – air ambiant	
			Durée[B]	Résultat[C]	Durée[B]	Résultat[C]
1	1	100%	10	5,26	10	détecté
1	2	100%	10	5,05	10	non détecté
1	3	100%	10	détecté	10	non détecté
2	1	100%	10	6,23	10	6,75
3	1	100%	10	6,36	10	7,05
4	1	100%	10	7,11	10	7,33
4	2	100%	10	7,54	10	7,37
4	3	100%	10	7,61	10	7,50
7	1	100%	10	NA	40	non détecté
9	1	100%	10	NA	40	détecté
11	1	70%	10	NA	40	détecté
14	1	30%	10	NA	60	6,62
14	2	30%	10	NA	NR	NR
14	3	30%	10	NA	NR	NR

[A] Proportion de canards présents dans la salle pour lesquels du génome viral d'IA de type A a été détecté sur l'écouvillon oropharyngé et/ou sur l'écouvillon cloacal par RT-PCR gene M

[B] Durée en minutes du prélèvement d'air

[C] Résultat de l'analyse du prélèvement d'air : quantité estimée de génome viral dans l'air en log10 de copies d'ARN, NA non analysé à ce jour, NR non réalisé, détecté signifie que le signal d'amplification obtenu par rRT-PCR est trop tardif pour retenir l'estimation de la quantité de copies d'ARN présente dans l'échantillon, et non détecté signifie qu'aucun signal d'amplification du gène cible n'a été obtenu par rRT-PCR.

Tableau 2. Détection et qauntité d'ARN d'IA de type A dans les échantillons d'air prélevés dans une caisse contenant deux canards

Jour post épreuve	N° de la répétition	Canard 1 Excrétion[A]	Canard 2 Excrétion[A]	BDS	
				Durée[B]	Résultat[C]
1	1			10	détecté
1	2	POS/NEG	POS/POS	10	non détecté
1	3			10	détecté
2	1	POS/POS	POS/POS	10	6,93
3	1	POS/POS	POS/POS	10	7,81
4	1			10	6,96
4	2	POS/POS	POS/POS	10	7,15
4	3			10	détecté
7	1	POS/NEG	POS/POS	20	détecté
9	1	NEG/NEG	NEG/POS	20	détecté
11	1	POS/NEG	NEG/NEG	20	détecté
14	1	NEG/NEG	POS/NEG	30	non détecté

[A] Résultats de l'analyse par RT-PCR gene M de l'écouvillon oropharyngé et de l'écouvillon cloacal du canard : POS signifie que du génome vial d'IA de type A a été détecté et NEG signifie qu'il y a absence de détection.

[B] Durée en minutes du prélèvement d'air

[C] Résultat de l'analyse du prélèvement d'air : quantité estimée de génome viral dans l'air en log10 de copies d'ARN, détecté signifie que le signal d'amplification obtenu par rRT-PCR est trop tardif pour retenir l'estimation de la quantité de copies d'ARN présente dans l'échantillon, et non détecté signifie qu'aucun signal d'amplification du gène cible n'a été obtenu par rRT-PCR

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Scoizec A, Niqueux E, Thomas R, Daniel P, Schmitz A and Le Bouquin S, 2018. Front. Vet. Sci., 5-15.

Spekreijse D, Bouma A, Koch G, Stegeman A, 2013. Influenza Other Respir Viruses, 7(2), 132–138.

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Synthèse

RISQUES SANITAIRES SPÉCIFIQUES LIÉS AUX PRODUCTIONS AVICOLES EN PLEIN-AIR : QUELS RISQUES ? QUELLES STRATÉGIES DE PROTECTION SANITAIRE ?

Guérin Jean-Luc[1], Répérant Jean-Michel[2]

[1]ENVT – UMR ENVT-INRAE IHAP – Chaire de Biosécurité & Santé Aviaires - Université de Toulouse - 31076 TOULOUSE,
[2]ANSES - 41 rue de Beaucemaine - 22440 PLOUFRAGAN
Jean-luc.guerin@envt.fr

RÉSUMÉ

Les productions avicoles en plein-air sont en plein essor, y compris en élevage biologique. Cependant, la sortie des animaux sur parcours augmente certains risques qui étaient mieux maîtrisés avec l'élevage en claustration. Parmi eux, figurent les infections bactériennes et virales : l'influenza aviaire hautement pathogène est notamment devenu un risque majeur et questionne l'accès aux parcours extérieurs pendant la période d'exposition aux oiseaux migrateurs. Le risque parasitaire est également prépondérant, en particulier le risque lié aux helminthes, plus communément appelés vers. Les œufs de ces vers, peuvent persister des années dans l'environnement extérieur, qui n'est pas nettoyable et décontaminable au contraire d'un bâtiment, et des hôtes intermédiaires de certains de ces vers sont présents naturellement dans la nature. Les moyens de lutte sont donc moins efficaces, concernant l'élimination des formes infestantes, mais le contrôle de la pression parasitaire par des anthelminthiques classiques autorisés est un bon moyen de lutte, à condition que ces produits soient utilisés à bon escient. Pour cela, il faut pouvoir identifier les espèces de parasites présentes, la charge parasitaire, et l'impact qu'elles ont sur les animaux. La coprologie ne peut pas apporter ces informations alors que l'examen nécropsique le peut. Enfin, l'utilisation de produits alternatifs est un choix, mais rarement fondé sur des évaluations objectives d'efficacité et donc d'intérêt réel. La gestion des parcours est également un élément important à considérer, afin de limiter les contacts avec les œufs des vers ou leurs hôtes intermédiaires.

ABSTRACT
Specific risks associated with free-range productions – the worm (helminth) hazard
Free-range poultry production is booming, including organic farming. However, raising animals outside increases risks that were better controlled with indoor farming. These major risks include bacterial and viral diseases: highly pathogenic avian influenza is now recognized as a major threat for poultry production when exposed to migratory birds. Among risks, parasitism also prevails, especially the risk associated with helminths, more commonly called worms. The eggs of these worms can survive for years in the environment, which is not cleanable and decontaminated like a building, and intermediate hosts of some of these worms occur naturally in nature. Control methods are therefore less effective in eliminating infective stages, but controlling parasite pressure with authorized classic anthelmintic drugs is a good method, provided that these products are used wisely. This requires being able to identify the species of parasites present, the parasite burden, and their impact on animal health. Coprology cannot provide this information, while post-mortem examination can. Finally, the use of alternative products is a choice, but rarely based on objective evaluations of effectiveness and therefore rarely of real interest. External area management is also an important element to consider, in order to limit contact with the eggs of the worms or their intermediate hosts.

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, l'élevage plein-air est en plein développement. Pour ne prendre que l'exemple du poulet, 14 millions de poulets de chair biologiques ont été mis en place en 2019, avec une progression de 14% par rapport à 2018 et de 40% par rapport à 2017 (source Synalaf). Concernant les poules pondeuses d'œufs de consommation, en 2018, 13,6 milliards d'œufs ont été produits en France, soit 871.000 tonnes. 39% des poules pondeuses étaient en production « alternative », en élevage biologique, au sol ou en plein-air. Cette évolution répond à la demande de certains consommateurs et entre dans une démarche qui revendique une amélioration du bien-être animal. Les volailles en plein-air peuvent exprimer des comportements spécifiques plus librement et y trouvent également un complément nutritionnel ; à ce titre, l'accès au parcours a un impact globalement positif sur la santé. Mais elles sont aussi davantage exposées aux risques biologiques : parmi eux, des prédateurs, des bactéries et des virus, mais également des parasites. Ces expositions peuvent compromettre la santé des oiseaux qui ont accès à ces parcours extérieurs, plus que celle d'oiseaux protégés dans des bâtiments. Les risques sanitaires associés aux parcours extérieurs et en conséquence, l'intérêt des mesures de restriction d'accès à ces parcours, posent question et seront discutés dans cette communication.

1. Typologie et évolution des productions avicoles avec accès à des parcours plein air

Les productions avicoles avec accès à un parcours plein air (volailles sous signes officiels de qualité label ou bio, poules pondeuses plein air, palmipèdes prêts à engraisser) représentent un segment très significatif de la production avicole française et répondent à une attente sociétale forte. Cette situation est très distinctive par rapport aux autres pays producteurs avicoles en Europe et *a fortiori* ailleurs dans le monde.

La typologie des parcours est extrêmement variable, en fonction des conditions de logement (dans des bâtiments, des tunnels ou des cabanes mobiles), des caractéristiques pédologiques et agronomiques des parcours et de la couverture forestière.

Cette diversité se traduit notamment par une variabilité de la densité de contamination fécale sur les parcours, notamment dans la zone d'accès au bâtiment, les collections d'eau sur les parcours, qui favorisent la persistance des agents infectieux et la contamination des oiseaux et l'attractivité du parcours pour l'avifaune sauvage.

Les principales espèces avicoles ont des profils très différents d'utilisation du parcours et de modalités possibles de contamination : il faut en particulier différencier les galliformes et ansériformes. Ces derniers ont une affinité marquée pour les points de collection d'eau et un caractère grégaire qui augmentent significativement les risques de contamination d'origine environnementale.

L'évaluation des risques sanitaires liés aux parcours doit donc prendre en compte cette très grande variabilité de systèmes de production, d'environnement et d'exposition à l'avifaune sauvage.

2. Quels risques sanitaires spécifiquement associés aux parcours ?

De manière très schématique, on peut identifier les principaux risques :

La persistance d'agents pathogènes dans l'environnement (sols, eaux de surface, végétation) : ce risque est extrêmement dépendant des paramètres physicochimiques (température, pH, …) et du couvert végétal. De même, le drainage du parcours et sa configuration (pente, sol filtrant ou argileux, …) influent considérablement sur les risques de rétention d'eau, très favorable à la diffusion d'agents présentant une persistance dans l'environnement. On mesure de ce fait l'importance de la saisonnalité et le risque accru en période froide et humide.

La plus grande vulnérabilité à des contaminations environnementales en provenance d'élevages voisins ou de la voie publique : ce risque est évidemment très difficile à évaluer, mais on peut faire l'hypothèse que des animaux non protégés dans un bâtiment peuvent être plus facilement en contact de matériel biologique (poussières, fientes, plumes, …) provenant d'élevages voisins, voire de transports d'animaux sur la voie publique en direction des abattoirs. De manière réciproque, des animaux non confinés et infectés pourront contaminer plus efficacement l'environnement du site d'élevage et éventuellement, des élevages voisins. Ceci est par exemple illustré avec l'influenza aviaire hautement pathogène chez le canard, ce dernier présentant une période d'incubation silencieuse de plusieurs jours avant de déclarer les premiers signes cliniques et de déclencher une éventuelle suspicion d'IAHP (Vergne et al., 2021).

Les contacts avec la faune sauvage, notamment aviaire :

La faune aviaire n'est pas la seule à pouvoir introduire des agents infectieux dans un élevage : l'introduction de bactéries pathogènes est possible *via* des mammifères porteurs : la meilleure illustration est le risque accru de rouget (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) pour les productions de poules pondeuses avec accès à un parcours extérieur, sans doute par contamination de l'environnement par des sangliers ou d'autres mammifères porteurs de la bactérie (Eriksson et al., 2013 ; Root et al., 2021 ; Zloch et al 2018).

Le risque lié à la prédation, par la faune terrestre ou aviaire, doit également être intégré dans l'analyse de risque (Jeni et al., 2021).

Il faut enfin rappeler que les risques sanitaires liés à la production avicole en plein air ne sont pas forcément directs : ils peuvent être générés par un système d'élevage comportant plusieurs bâtiments dispersés, souvent de plus petite taille, qui augmente mécaniquement le risque d'erreurs d'observance des mesures de biosécurité à l'entrée des bâtiments.

3. Focus sur le risque influenza aviaire hautement pathogène

Les épizooties récurrentes d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) rapportées en Europe depuis 2016 ont particulièrement affecté la filière palmipèdes gras du Sud-Ouest de la France. Ce bassin d'élevage est caractérisé par une forte densité spatiale et de longues durées d'élevage avec accès à des parcours, voire en plein air intégral. L'exposition à l'avifaune sauvage a donc été questionnée puis étudiée vis-à-vis du risque influenza aviaire (Anses, 2016; Van De Wiele et al., 2017). L'émergence des virus H5Nx (H5N8 puis depuis fin 2021, H5N1) appartenant au clade 2.3.4.4.b de lignée asiatique, a considérablement changé la donne car ces virus circulent activement dans les populations aviaires sauvages migratrices depuis des années et ce, de manière apparemment pérenne. De ce fait, ces virus sont à l'origine de multiples foyers index dans le compartiment domestique et ce, dans de nombreux pays d'Europe centrale et occidentale.

Pour autant, il est extrêmement difficile d'objectiver la prévalence de l'infection dans les populations sauvages, malgré des démarches de surveillance programmée dans certains pays du Nord de l'Europe et la surveillance évènementielle réalisée en France. Cette surveillance, basée sur l'analyse systématique des oiseaux trouvés morts *via* le réseau SAGIR (Van De Wiele et al., 2017) permet d'identifier quelques cas, sans pour autant prétendre à une représentativité de la circulation virale dans le compartiment sauvage. Cette difficulté tient sans doute à la fois à la faible proportion d'oiseaux infectés à un moment donné, à la faible mortalité associée à ces infections en dehors des zones de rassemblement d'oiseaux situées essentiellement au Nord de l'Europe et à la très faible proportion d'oiseaux morts effectivement collectés et analysés (Veen et al., 2007 ; Van De Wiele et al., 2017).

La fréquentation des parcours de volailles concerne souvent peu d'espèces d'oiseaux et rarement les oiseaux aquatiques migrateurs (Bicout et al., 2011). Certaines espèces commensales (hérons garde-bœufs, certains passereaux, …) sont susceptibles de jouer le rôle de relai épidémiologique entre les populations migratrices et les oiseaux d'élevage. Cette notion d'« hôtes relais » entre compartiments aviaires est séduisante, mais les études, réalisées souvent tardivement sur les élevages foyers et par recherche virale directe, n'ont pas permis de détecter d'éventuelles circulations virales, la fenêtre d'excrétion ne durant que quelques jours après exposition chez les espèces terrestres peu réceptives (Le Gall-Ladevèze et al., 2022 ; Van De Wiele et al., 2017).

4. Quelles mesures de protection vis-à-vis du risque IAHP ?

Sur la base de l'analyse de risque, les dispositions de prévention ont visé essentiellement à restreindre l'usage des parcours en cas de forte exposition à la faune sauvage contaminée. Ces dispositions se traduisent réglementairement par l'obligation de confiner les volailles dès la déclaration d'un niveau de risque « modéré » dans les zones réputées plus exposées à l'avifaune sauvage (dites « zones à risque particulier ») et sur l'ensemble du territoire métropolitain en cas de passage au niveau de risque « élevé ». Des adaptations sont prévues en cas d'impossibilité matérielle d'appliquer un confinement strict (filets, parcours restreints), mais malgré cela, la claustration est contestée en ce qu'elle est contradictoire avec les attentes sociétales et les cahiers des charges qui encadrent les productions sous signes officiels de qualité. Les dispositifs alternatifs, tels que les filets, sont expérimentés mais n'offrent pas à ce jour de protection suffisante. Les autres alternatives à la claustration, tels que les dispositifs d'effarouchement, n'ont pas non plus fait leurs preuves à ce jour. Il y a donc de la place pour la recherche et l'innovation, pour mieux préciser les risques et identifier des dispositifs qui permettraient de limiter les restrictions d'accès aux parcours et leur durée d'application dans l'année.

5. Risques parasitaires en plein-air

En plein-air, il existe un risque accru de contact avec une plus grande diversité d'organismes vivants évoluant dans ou sur le sol, et sur les parcours extérieurs. Parmi ces organismes, des parasites des volailles sont présents, mais également des hôtes intermédiaires de ces parasites, comme des insectes, des mollusques (limaces et escargots) et des vers de terre.

Le risque est également plus important en plein-air de contacts avec d'autres oiseaux ou d'animaux porteurs d'ectoparasites, notamment des diptères hématophages, des poux, des tiques et des acariens parasites. Le contact n'est pas obligatoirement direct, et des parasites peuvent être véhiculés et déposés ou émis sur les parcours par les animaux sauvages.

Il existe également un risque de contamination des parcours par la faune sauvage avec des oocystes de coccidies non présentes en claustration et ayant une spécificité d'hôte moins stricte que les coccidies du genre *Eimeria*, qui elles, sont strictement inféodées à une espèce aviaire, sauf quelques rares exceptions. Ainsi, les genres *Sarcocystis*, *Cryptosporidium* et *Toxoplasma* peuvent infecter les volailles plus

facilement sur parcours fréquentés et souillés par d'autres hôtes de ces parasites (palmipèdes sauvages, grande diversité d'oiseaux, chats…).
Les œufs d'helminthes et les oocystes de coccidies, émis par les oiseaux des lots précédents, peuvent persister et rester contaminants pendant des périodes très longues, d'au moins un an pour les oocystes de coccidies, et de plusieurs années pour les œufs de nématodes (Christenson et al., 1942) et de cestodes (Urquhart et al., 1996).
Même s'ils ne sont plus considérés comme des parasites, mais comme des microprédateurs, les insectes piqueurs ont plus de possibilités pour attaquer les volailles en extérieur pendant les périodes de pullulation que dans des bâtiments fermés où les accès sont moins faciles. Par exemple, des cas de mortalité de volailles de basse-cour ont été rapportés (Schnellbacher et al., 2012) suite à des piqûres par des simulies, petits diptères hématophages, très présents en été dans les zones humides. De plus, ces simulies peuvent transmettre des agents pathogènes lors de la piqûre, comme des protozoaires sanguins du genre *Leucocytozoon*, responsables de problèmes, notamment chez la dinde (Barnett B.D., 2019). Les hippoboscidés, mouches parasites ailées ou aptères, n'ont pas de spécificité d'hôtes et peuvent être responsables de prurit et disséminer des parasites sanguins comme *Haemoproteus* et *Leucocytozoon*.

6. Impact du parasitisme sur les oiseaux

Les parasites n'ont pas obligatoirement d'effets négatifs sur les performances et la santé des oiseaux contaminés. Même les espèces ayant le plus fort potentiel pathogène peuvent se développer sans conséquence chez leurs hôtes. Tout dépend de la charge parasitaire (le nombre de parasites hébergés par un même hôte), de l'espèce parasitaire, de l'état général de l'oiseau (les affections concomitantes ou antérieures l'affaibliront et le rendront moins résistant), et son éventuelle immunité acquise, si tant est que celle-ci présente un intérêt dans la lutte contre les parasites concernés.
Néanmoins, dans certaines situations, en fonction des paramètres énoncés ci-dessus, il peut y avoir un impact négatif sur la santé (jusqu'à de la mortalité ou du dépérissement marqué et durable), l'état général et les performances, ce qui aura des conséquences sur la production et la qualité des œufs et de la viande.

7. Les différents parasites

Les parasites les plus dommageables et les plus fréquents en plein-air sont les helminthes. En claustration, ce sont les coccidies qui sont les plus préoccupantes. Elles restent toutefois un élément majeur pour les productions en plein-air, en particulier parce que les oiseaux qui ont accès à des parcours commencent leur vie dans des bâtiments fermés, et que les accès à l'extérieur ne se font qu'au bout de quelques semaines. Ce délai est suffisant pour que ces parasites puissent se développer fortement et avoir des conséquences sur les oiseaux. On pourra considérer qu'après ouverture des trappes et accès aux parcours, la concentration en oocystes, les formes infectieuses en contact avec les oiseaux émises avec les matières fécales, aura tendance à diminuer du fait d'une dilution environnementale, mais en fait les oiseaux passent la majorité de leur temps dans les bâtiments, ne serait-ce que pour manger et boire, dormir, et s'abriter selon la météo. Le risque coccidien n'est donc a priori pas plus important en plein-air, mais il est peu probable qu'il soit plus faible que chez des poulets ou des poules, élevés au sol et confinés en bâtiments.
Les helminthes, communément appelés vers, appartiennent à trois grandes familles, dont deux ont un intérêt majeur en aviculture : les nématodes et les cestodes.
Les nématodes sont des vers ronds, à cycle direct (pas d'hôte intermédiaire) pour la majorité des espèces, avec des individus à sexes séparés. Quatre genres sont importants : *Ascaridia*, *Heterakis*, *Capillaria* et *Syngamus*. Les trois premiers se localisent dans le tube digestif, alors que *Syngamus* vit dans le tractus respiratoire.
Ascaridia galli, l'espèce la plus fréquente, vit dans l'intestin grêle, au niveau du jéjunum principalement, mais peut être retrouvé dans tout le tube digestif, de l'œsophage aux caeca dans les fortes infestations. Il a même été décrit dans la cavité abdominale de la poule, et on peut le retrouver dans l'œuf (Manna, 1992, Piergili Fioretti, 2010). Cependant, sa migration vers l'œuf de poule est inconnue, et deux hypothèses ont été émises : remontée depuis le cloaque ou transpercement de la paroi intestinale pour ensuite tomber dans l'oviducte. Cette espèce est responsable de chute de ponte, de dégradation de la qualité de l'œuf, d'amaigrissement, mais rarement de mortalité. Les œufs émis par les femelles peuvent survivre pendant plusieurs années dans l'environnement (Christenson et al., 1942), environ deux années dans de la litière mais jusqu'à trois ans et demi dans le sol (Maurer et al., 2020), ce qui rend les contaminations en plein-air plus durables. Les vers de terre sont capables d'héberger les œufs, mais pendant de courtes périodes qui semblent correspondre uniquement au transit dans le tube digestif des annélides (Augustine et Lund, 1974).
Heterakis gallinarum est aussi fréquent qu'*A. galli*, mais ce nématode n'est pratiquement pas pathogène. De petite taille, il se localise uniquement dans les caecums, et n'est souvent visible que lors de très fortes infestations, en mettant en évidence quelques individus dans le cul-de-sac des caecums ou en attendant qu'ils remontent à la surface du contenu caecal après ouverture longitudinale des caecums. En fait, lors d'infestations modérées, ils ne sont généralement pas détectés, sauf par une méthode de tamisage des contenus et observation sur fond noir

que nous avons développée avec l'ITAVI (Répérant et al., 2019). Ce ver a un cycle direct, mais ses œufs peuvent être ingérés par les vers de terre et persister dans leur organisme (Lund et al., 1966), faisant de ces derniers des hôtes paraténiques, c'est-à-dire pas obligatoires mais réservoirs et source possible de contamination pour les volailles qui peuvent les ingérer. Et le risque est plus grand sur parcours.

Même s'il a peu d'impact direct sur les oiseaux, *Heterakis* peut transporter *Histomonas meleagridis*, un protozoaire flagellé très pathogène chez la dinde et la poule, qui peut également entraîner des cas cliniques chez le poulet (Lund et al., 1966). Son potentiel pathogène est donc indirect mais très important, d'autant qu'il n'existe aucun traitement disponible contre l'histomonose.

Le genre *Capillaria* comprend plusieurs espèces d'intérêt, dont *Capillaria obsignata*, la plus pathogène, qui se localise dans l'intestin grêle et les caecums. Ce ver entraîne des troubles marqués même lors de faibles infestations, mais il est difficilement décelable, car il est fin comme un cheveu, d'où son nom, et souvent enfoui en profondeur dans la muqueuse du tube digestif.

Enfin, un nématode important à localisation extra-intestinale est le syngame, *Syngamus trachea*. Ce ver hématophage de couleur rouge se fixe sur la muqueuse de la trachée, en accouplement permanent (on l'appelle ver fourchu car à l'observation, il semble avoir une fourche à deux dents à une extrémité, qui correspond aux têtes du mâle et de la femelle accouplés). Très rare en bâtiment fermé, il est fréquent en plein-air, notamment chez le faisan et la perdrix. Ce ver très peu spécifique d'hôte, peut être retrouvé en grande quantité dans la trachée des corvidés. En présence de plusieurs couples, l'obstruction partielle de la trachée entraîne des problèmes respiratoires, avec dyspnée, cou tendu et bec ouvert. En plus de l'anémie et de l'amaigrissement, de la mortalité peut survenir au cours de crises respiratoires.

Les cestodes sont des vers segmentés, à cycle complexe comprenant un hôte intermédiaire obligatoire, en général un insecte ou un mollusque (Case et al., 1939). De nombreuses espèces ont été décrites chez les oiseaux, mais les genres les plus fréquents sont *Raillietina*, *Choanotaenia*, *Davainea* et *Hymenolepis*. En bâtiments fermés, le contact avec les hôtes intermédiaires est moins probable qu'en plein-air, mais des infestations fortes à cestodes peuvent être observées, même dans des élevages de poules en cages. Les grands cestodes (*Raillietina* et *Choanotaenia*), qui sont facilement observables dans l'intestin grêle, sont peu pathogènes, mais ils sont considérés comme un problème et des indésirables à tort, alors que les cestodes les plus dangereux sont difficilement visibles. *Hymenolepis* est un ver fin qui ressemble à un nématode, sa structure segmentée n'étant observable que sous microscope ou loupe binoculaire. *Davainea* est un cestode court, constitué de quatre à neuf segments et mesurant trois à quatre millimètres de longueur. Il est enfoui en profondeur dans la muqueuse duodénale et sa présence peut être suspectée plutôt en observant la séreuse qui est nécrosée au niveau de son point d'ancrage. C'est le cestode le plus pathogène, capable d'entraîner apathie, émaciation, amaigrissement et parfois mortalité. Alors que la plupart des autres cestodes ont des insectes comme hôtes intermédiaires (les ténébrions pour *Raillietina cesticillus*, les mouches pour *Choanotaenia infundibulum*, les fourmis pour *Raillietina tetragona*), les formes larvaires de *Davainea* sont hébergées dans des limaces ou des escargots.

Les œufs des cestodes sont enfermés dans les segments mûrs des vers, qui se détachent et franchissent activement le sphincter anal indépendamment de la défécation. Ainsi, lors d'infestations modérées, ces segments ne sont pas présents dans les matières fécales. On peut néanmoins trouver ces segments, blanchâtres et mobiles, à la surface des fientes lors de charge parasitaire massive chez un individu. Toutefois, les œufs caractéristiques de ces vers ne sont jamais observables dans les fientes, les segments étant mobiles et s'éloignant des matières fécales avant de se déchirer et de libérer les œufs. Ces œufs, comme ceux des nématodes, semblent pouvoir survivre pendant plusieurs années dans l'environnement (Urquhart et al., 1996).

Enfin, les trématodes sont des vers à cycle encore plus complexe que les cestodes, car ils nécessitent deux hôtes intermédiaires consécutifs, le deuxième devant être ingéré par l'oiseau pour que le stade adulte puisse se développer. Ainsi, ces vers sont rares mais risquent de moins le devenir en plein-air, avec l'augmentation du risque de rencontre du deuxième hôte intermédiaire. Un exemple de trématode rencontré chez les oiseaux, mais aussi chez l'Homme, est *Echinostoma revolutum*, qui utilise des escargots et des grenouilles pour réaliser son cycle de développement, et qui peut entraîner des entérites hémorragiques et un affaiblissement dans les fortes infestations.

8. Les outils de détection

Les infestations helminthiques sont variables en fonction des saisons. Ainsi, en plein-air, il est logique que les infestations aient lieu lors des explosions des populations des hôtes intermédiaires, au printemps et en été, ce qui se traduit par des pressions fortes en fin d'été, lorsque tous les stades sont arrivés à maturité.

La contamination des parcours est très difficile à évaluer, car il y a un phénomène de dilution des œufs dans l'environnement, mais également un phénomène de captation par des hôtes intermédiaires et des hôtes paraténiques, et des prélèvements de terre peuvent contenir des œufs de nématodes non parasites, très nombreux dans le sol et la matière organique, et parfois difficiles à distinguer d'œufs de vers parasites.

Le principal outil de détection des infestations est la coproscopie. Cette méthode permet de ne pas sacrifier d'animaux et est non invasive, mais c'est son seul intérêt. Elle ne permet pas de détecter les formes larvaires (qui ne pondent pas) ni les cestodes qui n'émettent pas d'œufs dans les fientes. De plus, les femelles des nématodes ne pondent pas continuellement, et des différences importantes dans la production d'œufs peuvent survenir d'un groupe de volailles à un autre, tous deux infestés avec des quantités de vers équivalentes (Permin et al., 1998). De plus, il est impossible de définir des seuils ou des concentrations d'œufs associés à des niveaux de risques. Enfin, pour certains vers comme *Ascaridia galli* et *Heterakis gallinarum*, les œufs sont très semblables (Christenson et al., 1942) et quasiment impossibles à distinguer, ce qui pose un problème sur la conduite à tenir, *Ascaridia* ayant un réel potentiel pathogène alors qu'*Heterakis* ne présente que le risque de transmettre *Histomonas*.

Sur de gros animaux, il n'est pas envisageable de sacrifier des sujets pour pratiquer une autopsie et un examen minutieux pour rechercher des parasites dans les différents compartiments et organes, mais pour les volailles, c'est envisageable à cause de la valeur relative d'un individu et de l'effectif dans un élevage. Cependant, l'examen direct est insuffisant car il ne permet de mettre en évidence que les vers de grande taille : *Ascaridia* et les grands cestodes dans le tube digestif, et *Syngamus* dans la trachée. Or, il est important de pouvoir mettre en évidence tous les vers présents, notamment les petits cestodes très pathogènes et les capillaires, parfois plus pathogènes qu'*Ascaridia*. Enfin, la présence d'*Heterakis*, lorsqu'elle est faible à modérée, n'est pas détectable en examen direct du contenu caecal.

Nous avons développé une méthode de tamisages successifs des contenus intestinaux et caecaux avec l'ITAVI, et transmis cette méthode à plusieurs laboratoires d'analyses vétérinaires qui l'utilisent pour rechercher ces vers cryptiques. Les capillaires et les *Heterakis* en petit nombre peuvent être facilement mis en évidence en milieu liquide dans des récipients à fond noir.

Concernant les cestodes, il est important de pouvoir identifier précisément les espèces, afin de connaître les périodes prépatentes mais surtout les hôtes intermédiaires principaux afin de pouvoir contrôler les populations de ces hôtes.

Les recherches peuvent être réalisées en routine, en absence de signes cliniques ou de suspicion associée à des baisses de performances, mais elles doivent l'être lorsqu'on constate des problèmes dans les élevages. Les niveaux d'infestation peuvent être réalisés pour les poules avant le transfert, au pic de ponte, en milieu et fin de ponte. Les poulets de chair ont une durée de vie plus courte. Ils risquent donc moins d'être infestés massivement, notamment par les cestodes. C'est ce qu'a suggéré le suivi en productions plein-air dans 94 élevages que nous avons réalisé en 2019-2020 avec les laboratoires partenaires formés à notre méthode de recherche. Les cestodes étaient absents des élevages de poulets de chair, mais les nématodes bien présents, alors que chez les poules pondeuses, les nématodes ont été retrouvés dans plus de 80% des élevages suivis, avec la moitié également porteuse de grands cestodes.

9. Les méthodes de contrôle des parasites

Les parcours en plein-air sont impossibles à décontaminer : la résistance des œufs, leur durée de vie et l'ensemencement possible par la faune sauvage de vers non spécifiques d'hôtes, ne permettent pas de réduire le risque dans cet espace ouvert et vaste. La seule piste, lorsqu'elle est possible, est la rotation des parcours. Cependant, avec des durées de vie de plusieurs années dans le sol, ces rotations de parcours sont insuffisantes pour contrôler totalement le risque.

Les moyens de contrôle des verminoses consistent essentiellement en des vermifugations régulières pour maintenir un équilibre entre les populations de parasites et la bonne santé et les bonnes performances des oiseaux. Actuellement, il n'y a pas de démonstration de résistance des vers aux anthelminthiques classiques (Rajković et al., 2019). Cependant, l'efficacité de ces molécules dure le temps du traitement et quelques jours après (Tarbiat et al., 2016). Des œufs présents dans l'environnement des oiseaux peuvent être ingérés et les larves évolueront vers les stades adultes suivant la période prépatente de ces vers. Ainsi, des calendriers de vermifugations doivent être définis et respectés pour maintenir une pression faible. De plus, tous les anthelminthiques n'ont pas d'allégation contre tous les vers susceptibles d'être présents. Le choix des molécules doit donc se faire après identification des espèces de vers présentes. De plus, actuellement dans l'Union Européenne, aucun des anthelminthiques classiques autorisés n'a de revendication et de démonstration de réel intérêt sur les cestodes. Contre ces vers, le meilleur moyen de lutte est de limiter le contact avec les hôtes intermédiaires potentiels de ces vers, d'où la nécessité encore une fois d'identifier les espèces impliquées pour connaître leurs hôtes intermédiaires les plus probables.

Les approches alternatives se développent et séduisent des éleveurs qui associent une démarche de production en plein-air avec l'utilisation de solutions « naturelles » pour lutter contre les parasites. Malheureusement, les modèles expérimentaux rigoureux pour évaluer l'intérêt de ces nouveaux produits, de même que l'efficacité des produits classiques et d'éventuelles résistances, font défaut en France, et sont peu nombreux et lourds dans les pays voisins. Or, il est indispensable de disposer de tels outils pour pouvoir faire le tri dans les molécules et produits présentant un réel intérêt.

La gestion du risque parasitaire en plein-air passe également par les aménagements des espaces extérieurs. L'environnement étant un réservoir important de parasites en tous genres, la gestion des parcours est essentielle et passe par le drainage pour limiter la stagnation d'eau et l'accumulation de flaques, l'empierrement des abords, des trappes et des zones de stationnement fréquent des oiseaux, afin de limiter l'accessibilité aux fientes contaminées, l'entretien des zones herbeuses… Ces mesures peuvent réduire le contact avec les œufs des parasites et l'attractivité des hôtes intermédiaires potentiels.

CONCLUSION

Les élevages en plein-air exposent les animaux à des agents pathogènes, virus, bactéries et parasites, dont ils étaient relativement bien protégés dans des bâtiments fermés. Ces pratiques augmentent le risque de recrudescence des infections et infestations parasitaires, avec des conséquences sur la santé et les performances des animaux.

Concernant les risques viraux et en premier lieu, l'influenza aviaire hautement pathogène, le risque d'introduction par la faune sauvage et de diffusion en cas d'infection de volailles sur parcours est encore difficile à objectiver. Des travaux complémentaires seront nécessaires pour mieux documenter la persistance des agents infectieux, les interactions avec la faune sauvage visitant les parcours, et plus globalement, le risque sanitaire généré par l'accès aux parcours.

Concernant spécifiquement le risque parasitaire, les méthodes de recherche et d'identification des parasites doivent être mises à jour pour être plus pertinentes que les outils couramment utilisés, comme la coproscopie pour la recherche d'œufs d'helminthes ou d'oocystes de coccidies, qui n'est pas pertinente en volailles, et qui doit être remplacée par l'examen de sujets représentatifs de l'état du troupeau.

L'évaluation de la pression parasitaire, l'identification des espèces parasitaires présentes, en lien avec l'appréciation de l'état du troupeau, peuvent aider à une lutte raisonnée et adaptée. Il est nécessaire de prendre en considération le risque et d'adapter les conduites d'élevage pour l'intégrer et tenter de le maîtriser. Néanmoins, les moyens de lutte sont limités, et l'abandon de méthodes établies et d'efficacité démontrée au profit de méthodes alternatives dont l'efficacité réelle reste souvent à démontrer ne permettra pas de compenser la détérioration de la situation engendrée par l'accès au plein-air.

Il y a de grandes chances de voir réapparaître ou s'amplifier des problèmes parasitaires jusqu'alors rares ou oubliés. Il va falloir ressortir nos vieux manuels. La parasitologie a de beaux jours devant elle.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Anses. 2016. Saisine n° 2016-SA-0059

Augustine P.C., Lund E.E., 1974. Avian Diseases, (18), 394-398

Barnett B.D., 1977. World's Poultry Science Journal, (33), 76-87

Bicout JD, Artois M, Musseau R, Caparros O, Lubac S. 2011. 9èmes JRA, Tours, France

Case A.A., Ackert J.E., 1939. Transactions of the Kansas Academy of Science, (42), 437-442

Christenson R.O., Earle H.H., Butler R.L. Creel H.H., 1942. Transactions of the American Microscopical Society (61), 191-205

Eriksson H., Nyman A.K., Fellström C., Wallgren P., 2013. Veterinary Record, (173), 18.

Jeni R.E., Dittoe D.K., Olson E.G., Lourenco J., Seidel D.S., Ricke S.C., and Callaway T.R., 2021. Poultry Science, (100), 101173.

Le Gall-Ladevèze C., Guinat C., Fiévet P., Vollot B., Lèbre L., Guérin J-L., Cappelle J., and Le Loc'h G. 2022. 14èmes JRA, Tours, France

Lund, E. E., Wehr E.E., Ellis D.J., 1966. Journal of Parasitology, (52), 899-902

Manna B., 1992. Ind. J. Anim. Health, (31), 89

Maurer V., Perler E., Amsler-Kepalaite Z., Bieber A., 2020. British Poultry Science, DOI: 10.1080/00071668.2020.1812525

Permin A., Nansen P., Bisgaard M., Frandsen F., Pearman M., 1998. Avian Pathology, (27), 382-389

Piergili Fioretti D., Veronesi F., Diaferia M., Franciosini M.P., Casagrande Proietti P., 2010. Italian Journal of Animal Science, (4), 310-312

Rajković M., Vučićević I., Vučićević M., Došenović M., Charvet L.C., Resanović R., Trailović S., 2019. Acta Veterinaria-Beograd, (69), 414-425

Répérant J.-M., Travel A., Dufay-Lefort A.-C., 2019, TeMa (51), 37-40

Root J.J., Ellis J.W., Shriner S.A., 2021. Transboundary Emerging Diseases, 1-7

Schnellbacher, R.W., Holder K., Morgan T., Lane Foil L., Hugues Beaufrère H., Nevarez J., Tully Jr. T.N., 2012. Avian Diseases, (56), 616-620

Tarbiat B., Jansson D.S., Moreno L., Lanusse C., Nylund M., Tydén E., Höglund J., 2016. Veterinary Parasitology, (218), 66-7

Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M., and Jennings F.W., 1996. In : Veterinary Parasitology (2nd edition) Blackwell Science; 261-264

Van De Wiele A, Humeau A, Bronner A, Guillemain M, Le Loc'h G, et al. 2017. Bull. Epidémiologique Santé Anim. Aliment. - DGAL - Anses, 27–31

Veen J, Brouwer J, Atkinson P, Bilgin C, Blew J, et al. 2007. Wetlands International, Wageningen, The Netherlands

Vergne T., Gubbins S., Guinat C., Bauzile B., Delpont M., Chakraborty D., Gruson H., Roche B., Andraud M., Paul M., and Guérin JL. 2021. Transboundary Emerging Diseases, (68), 3151-3155.

Zloch A., Kuchling S., Hess M., Hess C., 2018. Veterinary Record, (182), 35

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Communications orales

INTERACTION ECOLOGIQUES ET ECHANGES INFECTIEUX A L'INTERFACE ENTRE AVIFAUNE COMMENSALE ET CANARDS ELEVES EN PLEIN AIR

Le Gall-Ladevèze Chloé[1], Guinat Claire[2,3], Fiévet Pierre[4], Vollot Benjamin[5], Lèbre Laëtitia[1], Guérin Jean-Luc[1], Cappelle Julien[6,7], Le Loc'h Guillaume[1]

[1] IHAP, ENVT, INRAE, Université de Toulouse - 23 chemin des Capelles - 31076 TOULOUSE, France,
[2] D-BSSE, ETH Zürich - Mattenstrasse 26 - 4058 BASEL, Switzerland
[3] SIB - Quartier Sorge, Bâtiment Amphipole - 1015 LAUSANNE, Switzerland
[4] ENVT - 23 chemin des Capelles - 31076 TOULOUSE, France
[5] Independent researcher - 195 chemin d'Aimargues - 30670 AIGUES-VIVES, France
[6] ASTRE, CIRAD, INRAE, Université de Montpellier - TA A-117/E, Campus international de Baillarguet - 34398 MONTPELLIER, France
[7] CIRAD, UMR ASTRE - TA A-117/E, Campus international de Baillarguet - 34398 MONTPELLIER, France
chloe.legall-ladeveze@envt.fr

RÉSUMÉ
Les épizooties récentes d'influenza aviaire hautement pathogène touchant particulièrement les élevages de canards en plein air du Sud-Ouest de la France ont amené à questionner le rôle épidémiologique de l'avifaune fréquentant ces élevages. Autour d'un élevage de canards gras, nous avons observé l'avifaune sur les parcours extérieurs afin de quantifier et qualifier les occasions de contacts avec les canards, et nous avons collecté des prélèvements biologiques sur l'avifaune, les parcours et les canards afin de comparer leur profil microbiologique et rechercher de possibles échanges infectieux par l'étude de marqueurs robustes. Les interactions avec les canards et leur environnement étaient largement dominées en fréquence et proximité par les bergeronnettes grises (*Motacilla alba*) et les moineaux (*Passer domesticus, P. montanus*), permettant d'éventuelles transmissions infectieuses directes et indirectes. Le profil microbiologique des parcours était semblable à celui des canards, révélant de nombreux lots excréteurs de virus influenza faiblement pathogènes, ainsi que de *Chlamydia psittaci* et de gammacoronavirus de canards. Dans l'avifaune, les niveaux d'excrétion et de séropositivité faibles et sporadiques n'ont pas permis de montrer un risque d'infection majoré pour certaines espèces ou périodes. En outre, aucune identification virale ou bactérienne de l'avifaune n'était commune avec l'élevage, suggérant l'absence d'échanges infectieux. Il semble donc que l'avifaune commensale ne joue qu'un rôle épidémiologique mineur pour les élevages de canards en plein air, mais les contacts intenses observés ne permettent pas d'exclure les échanges.

ABSTRACT
Ecological and infectious monitoring at the interface between commensal wild birds and free-range ducks
Recent epizooties of highly pathogenic avian influenza that particularly affected free-range duck farms in southwest France raised questions as to the epidemiological role of wild birds visiting these farms. On a 'foie gras' duck farm, we observed wild birds on outdoor foraging areas so as to quantify and qualify occasions of contacts with ducks. We also collected biological samples from wild birds, foraging areas and ducks so as to compare microbiological patterns and look for possible infectious exchanges via the study of robust markers. Interactions with ducks and their environment were vastly dominated in frequency and proximity by white wagtails (*Motacilla alba*) and sparrows (*Passer domesticus, P. montanus*), allowing possible direct and indirect infectious transmission pathways. Microbiological profile of foraging areas was similar to the one of ducks, showing that numerous flocks excreted low pathogenic avian influenza viruses, as well as *Chlamydia psittaci* and duck gammacoronavirus. In wild birds, low and sporadic excretion and seropositivity levels did not allow to show any increased infection risk for certain species or times. Moreover, no viral or bacterial identification was similar in wild birds and the farm, suggesting the absence of infectious exchanges. It seems then that commensal wild birds only play a minor epidemiological role for free-range duck farms, but observed intense contacts do not allow to rule out exchanges.

INTRODUCTION

Les épizooties récurrentes d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) rapportées en Europe ces derniers hivers ont particulièrement affecté la filière palmipèdes gras du Sud-Ouest de la France. Ce bassin d'élevage étant caractérisé par une forte densité spatiale et de longues durées de plein air intégral, l'exposition à l'avifaune sauvage a donc été questionnée puis étudiée vis-à-vis du risque influenza aviaire (Anses 2016; Van De Wiele et al. 2017). Mais ces études réalisées souvent tardivement sur les élevages foyers, par recherche virale directe uniquement, ou bien en ciblant des espèces peu observées sur les élevages n'ont pas permis de détecter d'éventuelles circulations virales faibles à modérées, la fenêtre d'excrétion ne durant que quelques jours après exposition chez les espèces terrestres peu réceptives. Afin de lever ces écueils et d'optimiser les chances de détection d'échanges infectieux à l'interface sauvage-domestique, nos objectifs étaient donc : (i) d'affiner l'étude écologique et comportementale des oiseaux fréquentant un élevage de canards gras du Sud-Ouest, afin (ii) de cibler une surveillance infectieuse multimodale basée sur la recherche directe et sérologique de virus influenza A (VIA), et de marqueurs d'échanges infectieux plus persistants.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Site d'étude et dispositif expérimental de terrain

L'étude s'est concentrée sur un élevage de canards mulards du Gers, typique de la filière foie gras du Sud-Ouest et foyer d'IAHP en 2017. Le site est distant de zones humides particulières, et géré en agroforesterie avec des arbres et haies fruitières sur et autour des parcours extérieurs.

Deux jours consécutifs par mois de juillet 2020 à juin 2021 (hormis février et mai), des observations standardisées de l'avifaune présente sur les parcours ont été réalisées par la même personne. Chaque jour, quatre sessions d'observation étaient réparties équitablement du lever au coucher du soleil, en tournant entre trois parcours différents sélectionnés aléatoirement en début de visite. Les sessions d'observation consistaient en 30 min de balayage aux jumelles des parcours, notant pour chaque oiseau sauvage présent : son espèce, son comportement et son environnement direct (type de sol, perchoir, proximité inférieure à 1 m avec un canard).

Séparément des observations, de juillet 2019 à mars 2021, 12 sessions de prélèvements sur l'avifaune ont été réalisées. Celles-ci ont consisté en des captures au filet japonais (filets fins tendus entre de grandes perches verticales) en de multiples zones de l'élevage, ciblant essentiellement l'avifaune commensale de petite taille. Sur les individus capturés, une bague d'identification individuelle a été posée, et des écouvillons oropharyngés et cloacaux ont été prélevés. Sur les individus d'au moins 11 g, 100 µL de sang ont aussi été prélevés sur tubes secs. Durant les hivers 2019-2020 et 2020-2021, des fèces fraîches de hérons garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) ont été collectées par écouvillons sur une bâche au sol sous le dortoir voisin (2 km) occupé par le groupe observé sur l'élevage en hiver.

A la fin de chacune des sessions de captures sur l'élevage, des prélèvements environnementaux d'eau (abreuvoirs, flaques) et de chiffonnettes sur surfaces horizontales dégagées (matériel, béton) ont été réalisés sur les parcours de tous les lots présents.

Enfin, à cinq occasions les prélèvements sur lots de canards prêts à engraisser pour autocontrôles de VIA ont été doublés, permettant d'obtenir des écouvillons cloacaux et trachéaux de 20 individus sur ces lots. A ceux-ci, s'ajoutent sept lots dont les résultats d'analyse officielle des autocontrôles de VIA ont été obtenus, sans les écouvillons associés.

1.2. Analyse des données d'observation

L'ensemble des données d'observation (87 sessions) a été utilisé pour dénombrer la richesse en espèces à chaque mois de visite. Les données des parcours en présence de canards (34 sessions) ont été ensuite utilisées pour caractériser les profils de co-occurrence des différentes espèces ou groupes d'espèces de l'avifaune, par une méthode d'analyse de réseau. Les espèces ont alors été regroupées en communautés de liens plus denses par un algorithme de cheminement aléatoire le long des liens. Ces mêmes données ont été utilisées pour décrire la distribution des comportements individuels des espèces majoritaires en présence des canards.

1.3. Traitement et analyse des prélèvements biologiques et environnementaux

Les écouvillons ont été traités par lots de cinq (mêmes mois, espèce, âge et type d'écouvillon) à l'aide d'un kit d'extraction et purification d'ARN et ADN. Les prélèvements environnementaux ont été pré-traités par saturation de sels phosphatés puis le surnageant a été filtré à 0,22µm. La membrane de chaque filtre a ensuite été broyée avec une solution isotonique, et les surnageants de broyats ont été regroupés par date et pour chaque parcours, puis traités de la même manière que les surnageants des écouvillons afin de purifier les acides nucléiques.

Pour les recherches directes d'agents infectieux, les acides nucléiques ainsi extraits ont été analysés par différentes RT-qPCR ou qPCR large spectre

adaptées en chimie SYBR Green. Les cibles étaient : l'ensemble des AIV (amorces "gène M" M52C/M253R, protocole Croville et al., 2018), l'ensemble des avulavirus dont virus de la maladie de Newcastle (NDV) (amorces AVU-RUB-F1/AVU-RUB-R (Tong et al. 2008)), l'ensemble des coronavirus (amorces AC-CoV-F/AC-CoV-R (Chamings et al. 2018)), et l'ensemble des bactéries du genre *Chlamydia* (amorces Ch23S-F/Ch23S-R (Ehricht et al. 2006)). Tout échantillon positif ou douteux a été vérifié par électrophorèse sur gel et séquençage Sanger du produit amplifié. Les AIV et chlamydia ont été plus spécifiquement identifiés, les premiers par séquençage et typage du gène HA, et les seconds par typages multi-locus et séquençage du plasmide au LNR de l'Anses à Maisons-Alfort. Les échantillons positifs aux VIA non typables par séquençage ont été testés pour les sous-types H6, H5 et H7 (RT-qPCR spécifiques).

Les sérums ont été analysés pour recherche d'anticorps anti-VIA et anti-NDV, grâce à des kits commerciaux ELISA compétition multi-espèces ID Screen® FLUACA et ID Screen® NDVC respectivement (Innovative Diagnostics, Grabels, France). Les résultats douteux selon les indications du fabricant ont été considérés faiblement positifs. Les sérums positifs aux VIA ont été ensuite analysés par un kit ELISA ID Screen® FLUACH5 (Innovative Diagnostics, Grabels, France) ciblant les anticorps anti-VIA de sous-type H5.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Un total de 42 espèces sauvages (Passériformes principalement) a été observé sur les parcours extérieurs de l'élevage au cours des 87 sessions d'observation sur 10 mois. Les richesses en espèces sur les parcours ont varié entre 14 et 20 au long des visites. En présence de canards domestiques sur les parcours (34 sessions), un total de 25 espèces sauvages a été observé. Le réseau formé par leurs co-occurrences cumulées sur l'ensemble des sessions, estimant ainsi de potentiels contacts indirects (Figure 1) montre une forte hétérogénéité des fréquences d'observation. Ainsi un trio d'espèces apparaît largement plus que les autres : les bergeronnettes grises (*Motacilla alba*), les moineaux (*Passer domesticus* et *P. montanus*) et les canards, associées deux par deux sur 82% à 94% des sessions d'observation. Les fréquences d'associations suivantes sont inférieures à 25% des sessions. Trois communautés de liens plus denses ont été identifiées (Figure 1), comprenant respectivement 11, 8 et 4 espèces : canards domestiques et espèces sauvages plus intensément en lien avec eux (communauté 1) ; espèces observées strictement en automne-hiver et en printemps-été (communautés 2 et 3, respectivement). Ces résultats d'observation contrastent avec d'autres contextes d'élevages européens et français où les bergeronnettes sont plus rares, tandis qu'en général les Columbidés, étourneaux et Corvidés sont plus abondants (Bicout et al. 2011; Veen et al. 2007). Parmi les 25 espèces sauvages observées sur les parcours occupés par des canards, 9 ont parfois été observées à moins d'un mètre de ceux-ci (131 observations individuelles) (Figure 1). Parmi ces contacts rapprochés favorisant d'éventuelles transmissions infectieuses directes, 81% impliquaient des bergeronnettes grises, et seulement 11% les deux espèces de moineaux, les autres espèces comptant chacune moins de 5 observations de contacts rapprochés (Figure 1). Pour ce qui est des comportements individuels favorables aux échanges infectieux indirects, les bergeronnettes grises se démarquaient encore largement par leur observation plus fréquente que d'autres sur le sol dégradé par les canards (52% des observations contre 6,6% pour les moineaux et 21,8% pour tout le reste). De plus, les bergeronnettes grises et moineaux ont été les seules espèces observées pénétrant dans les bâtiments (3 et 9 observations respectivement), ou bien perchées sur les abreuvoirs (22 et 6 observations, ainsi qu'une tourterelle turque).

Un total de 1936 individus sauvages a été prélevé en 12 visites, représentant 62 espèces de 24 familles et 10 ordres taxonomiques, dont une majorité de Passériformes (Tableau 1). Neuf d'entre eux (passereaux capturés et une fiente de héron garde-bœufs) se sont révélés positifs pour la présence de VIA (0,46%) en RT-qPCR. Les prélèvements positifs présentaient de très faibles charges virales (Ct tous supérieurs à 33 cycles) qui n'ont pas permis de séquencer ou de détecter de sous-types H5, H6 ou H7 par RT-qPCR et seule une séquence dégradée a été obtenue à partir de la fiente de héron. Celle-ci a été prélevée durant l'épizootie de VIA H5N8 dans les élevages de la zone en 2021, mais la séquence était proche de sous-types H5 faiblement pathogènes. En sérologies, 25 des 910 sérums prélevés (2,75%) étaient positifs aux anticorps anti-VIA (Tableau 1), dont 2 du même individu à un mois d'intervalle. Parmi les 25 séropositifs, 5 étaient faiblement positifs (pourcentages de compétition entre 45% et 50%) et tous les autres bien positifs (pourcentages de compétition entre 9% et 43%, médiane de 31%). La proportion de séropositivité dans la population n'a pas varié significativement durant la période d'étude, et tous étaient séronégatifs pour le sous-type H5. En parallèle, 9 des 23 lots de canards (39%) prélevés par écouvillons ou dans l'environnement de leurs parcours se sont révélés positifs aux VIA. Les deux modes de prélèvement étaient concordants dans leurs résultats et dans les niveaux de charges virales plutôt moyens à faibles (Ct entre 31 et 35 cycles). Deux étaient positifs en juin 2019 à un sous-type H7 faiblement pathogène, tandis que les sept autres

(deux saisons d'automne-hiver) étaient positifs au sous-type H6. Un lot en février 2020 a en parallèle présenté un sous-type H11. Ces détections de VIA en élevage de canards gras sont relativement similaires à ce qui est observé habituellement en Europe (Gonzales et al. 2010). Concernant les avulavirus, aucune détection n'a été obtenue par RT-qPCR dans l'avifaune ou les lots de canards, et seuls quatre sérums de l'avifaune (0,44%) étaient positifs pour les anticorps anti-NDV durant les deux hivers, dont deux du même individu à un mois d'intervalle. Parmi les quatre séropositifs, deux étaient faibles (pourcentages de compétition de 66% et 70%) et deux bien positifs (pourcentages de compétition de 56% et 41%). Cela concorde avec la faible circulation actuelle de ces virus en France, en particulier en élevage (Huneau-Salaün et al. 2020). Aucun coronavirus n'a été détecté dans l'avifaune par RT-qPCR, tandis que cinq lots de canards (29%) étaient positifs de façon moyenne à faible (Ct entre 32 et 38 cycles) par écouvillons cloacaux et/ou par l'environnement aux deux saisons d'automne-hiver. Les séquences analysées étaient toutes très proches de l'espèce *Duck coronavirus 2714* isolée dans les Anatidés sauvages et domestiques (Chen et al. 2013). Enfin, neuf individus ont été positifs aux chlamydia par qPCR dans l'avifaune (0,46%). Malgré de faibles charges infectieuses dans les échantillons (Ct supérieurs à 34 cycles sauf un de 27 cycles), quatre souches ont pu être identifiées comme des souches aviaires de *Chlamydia abortus*. Les écouvillons de canards mulards ainsi que leur environnement étaient plus infectés avec huit lots positifs (47%), tous durant les deux saisons d'automne-hiver. Les charges bactériennes plus importantes (Ct entre 30 et 36 cycles) ont permis d'identifier sur la quasi-totalité d'entre eux des *C. psittaci* de génotype GR9, circulant habituellement chez les canards gras (Vorimore et al. 2015). Trois parcours de l'hiver 2020 étaient aussi porteurs de *C. abortus*, en parallèle ou non de *C. psittaci*, mais les souches n'ont pas pu être identifiées avec précision et aucun écouvillon de ces lots n'a pu être analysé pour identifier un possible portage concomitant chez les canards.

CONCLUSION

La domination massive des bergeronnettes grises et des deux espèces de moineaux dans les observations en présence des canards sur parcours, ainsi que leurs comportements individuels particulièrement proches des canards et de leurs zones de concentration, forment des conditions particulièrement favorables à d'éventuels échanges infectieux directs et indirects. Cependant, des mesures d'éloignement strictes pour ces petites espèces peu farouches sont difficilement compatibles avec l'élevage en plein air. Par ailleurs, l'avifaune commensale semblerait très rarement infectée par des agents pourtant identifiés abondamment chez les canards mulards et dans leur environnement. En outre, les très faibles charges infectieuses que nous avons trouvées dans l'avifaune limiteraient en situations de contact leur capacité de transmission infectieuse en direction des oiseaux d'élevage. L'avifaune commensale ne semble donc pas jouer un rôle majeur dans l'épidémiologie des agents infectieux des élevages de canards en plein air, en comparaison des voies de circulation infectieuse liées à la biosécurité intra-filière (Guinat et al. 2019).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Anses. 2016. Saisine n° 2016-SA-0059
Bicout JD, Artois M, Musseau R, Caparros O, Lubac S. 2011. 9èmes JRA, Tours, France
Chamings A, Nelson TM, Vibin J, Wille M, Klaassen M, Alexandersen S. 2018. Sci. Rep. 8(5980):1–10
Chen G-Q, Zhuang Q-Y, Wang K-C, Liu S, Shao J-Z, et al. 2013. PLoS ONE. 8(8):e72918
Croville G, Foret C, Heuillard P, Senet A, Delpont M, et al. 2018. Avian Pathol. 47(3):253–60
Ehricht R, Slickers P, Goellner S, Hotzel H, Sachse K. 2006. Mol. Cell. Probes. 20(1):60–63
Gonzales JL, Elbers ARW, Bouma A, Koch G, De Wit JJ, Stegeman JA. 2010. Influenza Other Respir. Viruses. 4(2):91–99
Guinat C, Artois J, Bronner A, Guérin JL, Gilbert M, Paul MC. 2019. Sci. Rep. 9(6177):1–9
Huneau-Salaün A, Schmitz A, Scoizec A, Briand F-X, Van De Wiele A, et al. 2020. Bull. Epidémiologique Santé Anim. Aliment. - DGAL - Anses. 91:1–7
Tong S, Chern S-WW, Li Y, Pallansch MA, Anderson LJ. 2008. J. Clin. Microbiol. 46(8):2652–58
Van De Wiele A, Humeau A, Bronner A, Guillemain M, Le Loc'h G, et al. 2017. Bull. Epidémiologique Santé Anim. Aliment. - DGAL - Anses, pp. 27–31
Veen J, Brouwer J, Atkinson P, Bilgin C, Blew J, et al. 2007. Wetlands International, Wageningen, The Netherlands
Vorimore F, Thébault A, Poisson S, Cléva D, Robineau J, et al. 2015. Pathog. Dis. 73(1):1–9

Figure 1. Réseau des co-occurrences d'espèces sauvages en présence de canards, cumulées sur l'année. Chaque nœud correspond à une espèce ou groupe d'espèces, de taille proportionnelle au nombre d'espèces liées.

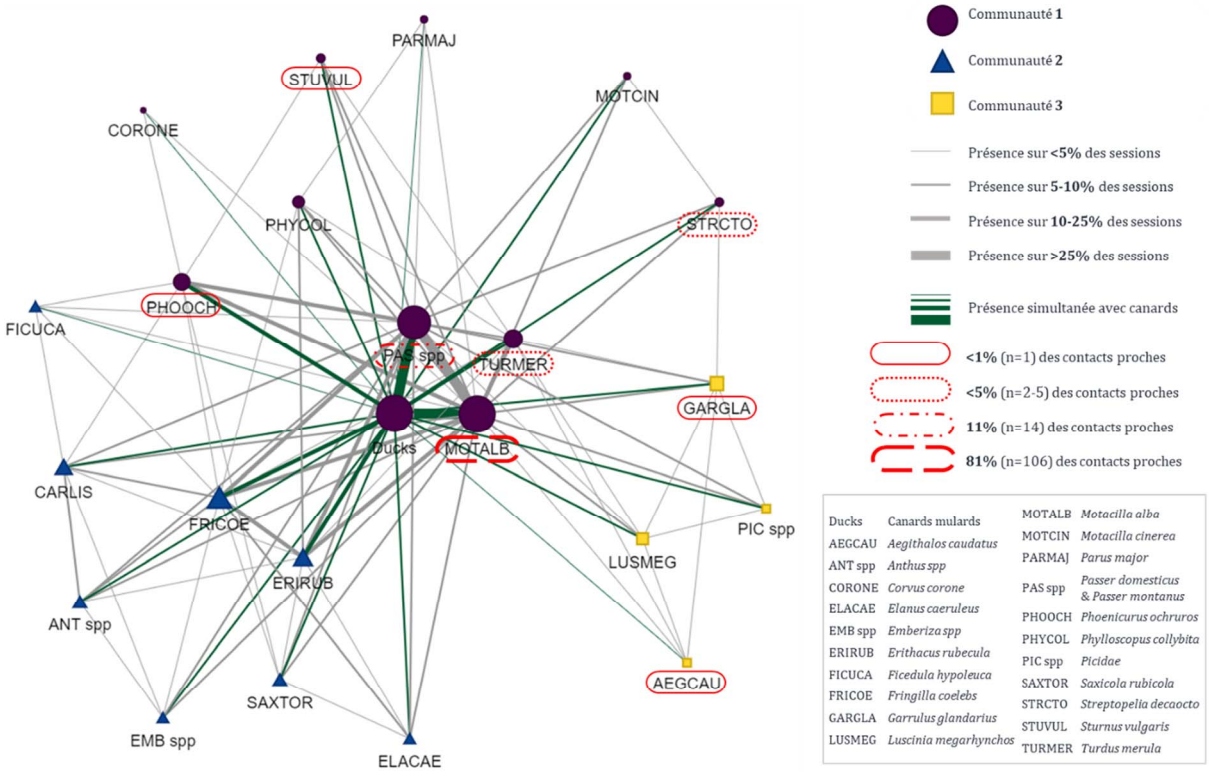


Tableau 1. Résultats des analyses PCR et ELISA par groupes d'espèces. Les groupes en gras sont ceux également observés en présence de canards sur l'étude écologique. Entre parenthèses sont indiqués les pourcentages de prévalences apparentes. Le groupe "autres" réunit les groupes d'espèces à moins de 30 individus, soit par ordre décroissant d'effectifs : *Picidés, Emberiza spp., Sturnus vulgaris, Regulus spp., Corvidés, Accipiter nisus, Charadriiformes, Alcedo atthis, Hirundidés, Streptopelia decaocto, Phasianus colchicus, Asio otus* et *Upupa epops*. La prévalence chez les canards mulards est calculée à l'échelle du lot, c'est-à-dire réunissant écouvillons et environnement d'un même lot.

Espèces prélevées		**Positifs en PCR**				**Positifs en ELISA**	
Groupe	**Effectif (dont sérums)**	**VIA**	**Avula-virus**	**Corona-virus**	**Chlamy-dia**	**VIA**	**Avula-virus**
Muscicapidés	289 (159)	**1 (0,35)**	0	0	0	**5 (3,14)**	0
Bubulcus ibis	206 (1)	**1 (0,49)**	0	0	0	0	0
Passer montanus	206 (156)	0	0	0	**1 (0,49)**	**2 (1,28)**	0
Passer domesticus	199 (173)	**2 (1,01)**	0	0	0	**1 (0,58)**	0
Fringillidés	186 (45)	**1 (0,54)**	0	0	**1 (0,54)**	0	0
Sylviidés	169 (76)	**2 (1,18)**	0	0	**2 (1,18)**	**5 (6,6)**	0
Aegithaloidés	142 (0)	0	0	0	**3 (2,11)**	na	na
Paridés	133 (37)	0	0	0	0	0	0
Turdidés	117 (100)	0	0	0	0	**3 (3,0)**	**2 (2,0)**
Motacilla spp.	91 (58)	**1 (1,1)**	0	0	**2 (2,2)**	**5 (8,6)**	**1 (1,7)**
Certhioidés	37 (7)	0	0	0	0	0	0
Prunella modularis	35 (30)	0	0	0	0	**3 (10,0)**	0
Anthus spp.	33 (22)	**1 (3,0)**	0	0	0	0	**1 (4,5)**
Autres	93 (46)	0	0	0	0	**1** *Accipiter nisus* **(25)**	0
Total avifaune	**1936 (910)**	**9 (0,46)**	**0**	**0**	**9 (0,46)**	**25 (2,75)**	**4 (0,44)**
Lots de canards	**17 (23 pour VIA)**	**9 (39)**	**0**	**5 (29)**	**8 (47)**	**na**	

DECONTAMINATION DES CAMIONS ET CAGES DE TRANSPORT DE CANARDS : ETUDE DESCRIPTIVE DANS LE SUD-OUEST DE LA FRANCE DURANT L'EPIZOOTIE D'INFLUENZA AVIAIRE 2020-2021

Huneau-Salaün Adeline, Scoizec Axelle, Thomas Rodolphe, Martenot Claire, Schmitz Audrey, Pierre Isabelle, Allée Chantal, Busson Rachel, Massin Pascale, Briand François-Xavier, Guillemoto Carole, Louboutin Katell, Souchaud Florent, Cherbonnel-Pansart Martine, Niqueux Eric, Grasland Béatrice, Souillard Rozenn, Le Bouquin Sophie

Anses – Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, BP 53, 22440 Ploufragan
adeline.huneau@anses.fr

RÉSUMÉ

En 2021, le contrôle de l'épizootie d'Influenza Aviaire (IA) a nécessité l'abattage d'un nombre important de troupeaux de canards dans le Sud-Ouest de la France. Une étude menée dans des conditions similaires en 2017 avait montré que la décontamination des caisses et camions utilisés pour le dépeuplement était souvent insuffisante. Cette nouvelle étude visait à évaluer l'efficacité du nettoyage et de la désinfection (N&D) des camions et caisses durant l'épizootie 2021 et déterminer si les pratiques avaient évolué depuis 2017. Un second objectif était d'estimer la corrélation entre les résultats des méthodes d'évaluation du N&D par i/ détection du génome d'influenzavirus (IAV) sur les surfaces, ii/ inspection visuelle de la propreté des caisses, iii/ dénombrement microbiologique sur prélèvement de surface, ces deux dernières méthodes étant usuellement utilisées en abattoir. Dans cinq abattoirs, huit camions et leurs caisses ont été prélevés par chiffonnage et écouvillonnage (208 échantillons) pour détecter par rRT-PCR la présence de génome IAV avant et après N&D. Une inspection visuelle de la propreté et des dénombrements des coliformes thermotolérants par écouvillonnage et boîte de contact ont été réalisés après N&D. Les protocoles de décontamination utilisés étaient propres aux abattoirs. Avant N&D, 75 % des caisses étaient positives pour le génome IAV et sept camions sur huit. Les procédures de N&D ont été renforcées en 2021, avec l'utilisation plus courante d'eau chaude et de détergent. Cependant, 28 % des caisses étaient encore positives IAV après N&D, bien que la propreté et les dénombrements bactériens aient été jugés satisfaisants pour respectivement 84 % et 91 % des caisses. Aucune corrélation n'a été observée entre les résultats de détection de génome viral et ceux de l'inspection visuelle et des dénombrements bactériens. La détection de génome IAV par rRT-PCR sur prélèvements de surface constitue la méthode la plus indiquée pour évaluer la décontamination des camions et caisses de transport dans un contexte d'IA. Renforcer les procédures de décontamination est encore nécessaire pour éviter une contamination résiduelle en IAV, avec une vigilance accrue sur les risques de contaminations croisées lors des processus.

ABSTRACT

Evaluating efficacy of cleaning and disinfection of vehicles and transport crates during Avian Influenza outbreaks

In 2021, France faced large avian influenza outbreaks. Controlling these outbreaks required the preventive depopulation of a large number of duck farms. A previous study in 2017 showed that the quality of decontamination of trucks and transport crates used for depopulation was often insufficient. A new study was then set up to evaluate cleaning and disinfection (C&D) of trucks and crates used for duck depopulation and whether practices had changed since 2017. Another objective was to evaluate the correlation of results between the methods used to assess decontamination: i/ detection of avian influenza virus (AIV) genome, ii/ visual inspection of cleanliness, and iii/ microbial counts, considering that ii and iii are commonly used in abattoirs. In five abattoirs, eight trucks and their crates were sampled by swabbing to detect AIV genome by rRT-PCR before and after decontamination. Visual cleanliness scores and coliform counts were also determined on crates after C&D. Trucks and crates were decontaminated according to the abattoirs' protocols. Before C&D, three quarters of crates (59/79) and 7 of 8 trucks were positive for AIV genome. C&D procedures were reinforced in 2021 compared to 2017; use of detergent solution and warm water were more common. Nevertheless, 28% of the crates were positive for AIV genome after C&D, despite the fact that cleaning scores and microbiological counts were satisfactory for 84% and 91% of the crates, respectively. No correlation was observed between results for AIV genome detection and results from visual control or from coliform counts. Abattoirs are encouraged to use environmental sampling coupled with AIV genome detection to monitor the quality of cleaning and disinfection of trucks and crates during AI outbreaks. Reinforcement of biosecurity measures at abattoirs is needed to avoid AIV residual contamination of the equipment and cross-contamination during the C&D process.

INTRODUCTION

Durant l'hiver 2020-2021, la France a subi une épizootie d'Influenza Aviaire Hautement Pathogène (IA HP) de sous type H5 impliquant plus de 400 foyers, majoritairement dans la filière de canards gras du Sud-Ouest. Pour lutter contre la propagation de l'IA, un abattage préventif des troupeaux de canards a été mis en œuvre autour des exploitations infectées. Quatre abattoirs et une plateforme temporaire de dépeuplement ont été impliqués. Les camions servant au transport des canards à l'abattoir étaient décontaminés après chaque enlèvement. Une stratégie d'abattage préventif identique avait déjà été appliquée pour contenir l'épizootie d'IA HP dans la même zone durant l'hiver 2016-2017. Des observations avaient alors montré que la décontamination des camions et caisses de transport était parfois insuffisante (Huneau-Salaün et al. 2017). Une nouvelle étude a donc été réalisée en 2021 pour évaluer si l'efficacité de la décontamination des moyens de transport avait été améliorée sur la base de l'expérience de l'épizootie précédente. Un objectif secondaire était de comparer les méthodes d'évaluation de la décontamination classiquement utilisées par les opérateurs (évaluation visuelle de la propreté, dénombrement bactériologique de surface) avec la détection de génome de virus IA (VIA), afin de déterminer si les méthodes de routine pouvaient contribuer à la gestion du risque IA.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Sites d'abattage enquêtés

Les enquêtes et prélèvements en abattoir ont été réalisés entre le 18 et le 20 janvier 2021 par deux équipes de deux enquêteurs Anses. Quatre abattoirs ainsi que la plateforme de dépeuplement aménagée pour les circonstances sur un site de lavage de véhicules de transport de volailles ont été enquêtés. La décontamination d'un ou de deux camions a été étudiée par site enquêté, soit huit véhicules au total, le même camion étant suivi avant et après décontamination. La décontamination du matériel et du véhicule était réalisée par le personnel de l'abattoir et/ou le chauffeur, selon le protocole mis en place par l'opérateur d'abattage. Un questionnaire permettait de collecter les informations sur le protocole de nettoyage et désinfection (N&D).

1.2. Méthodes de contrôle de la décontamination

Le contrôle de la décontamination a été réalisé selon trois méthodes :

- Contrôle visuel de la propreté des caisses après N&D (dix par camion) selon une échelle à trois scores (sale, intermédiaire, propre),
- Contrôle bactériologique après N&D par dénombrement des coliformes thermotolérants par i/ écouvillonnage (chiffonnage) et ii/ empreinte sur gélose (boîte de contact). Les surfaces contrôlées comprenaient le fond de dix caisses par camion, le plateau, les montants latéraux et le hayon arrière du véhicule,
- Contrôle virologique par recherche rRT-PCR du gène M des VIA sur prélèvement de surface. Dix caisses ont été contrôlées avant et après N&D ainsi que plusieurs surfaces du camion : carrosserie extérieure, roue et cabine. Les prélèvements étaient réalisés avec un écouvillon stick dans les rainures des caisses et des chiffonnettes sur les surfaces du camion. Un prélèvement est considéré positif si la présence de gène M est détectée.

Après N&D, les mêmes caisses ont été contrôlées avec la méthode visuelle, le dénombrement bactérien et la recherche de génome VIA pour comparer les résultats. Pour le contrôle virologique, les prélèvements n'ont pas été effectués sur les mêmes caisses avant et après N&D mais le même lot de conteneurs en provenance d'un camion a été contrôlé aux deux étapes.

2. RESULTATS

2.1. Organisation des flux de circulation

Une analyse des circuits de camions de transport et des caisses a été réalisée à partir des plans de site des abattoirs. Dans les quatre abattoirs, les circuits des camions de transport et des caisses ont été aménagés selon le principe de la marche en avant d'une zone sale (quai de réception des caisses et de déchargement des animaux) vers une zone propre (quai de chargement des caisses propres dans les camions). Cependant, dans trois abattoirs, les quais de déchargement et de rechargement des caisses étaient proches, simplement séparés par une cloison non étanche. De plus, les zones d'accrochage des canards, de lavage des caisses et de stockage des cages décontaminées étaient très proches et pas complètement séparées. Un flux d'air, visuellement chargé notamment de plumes, circulait depuis les zones les plus contaminées vers l'aire de stockage des caisses propres. Dans deux abattoirs, le circuit des camions sur le site formait également une boucle, menant à l'entrée et à la sortie des véhicules par un seul portail d'accès, avec un croisement des véhicules propres et sales. Pour la plateforme de dépeuplement, le principe de la marche en avant n'était pas respecté car les camions repassaient par la même voie de circulation avant et après N&D. L'aire d'équarrissage était située à proximité de la zone de stockage des caisses décontaminées, amenant le véhicule d'enlèvement des cadavres à passer en zone propre.

2.2. Protocoles de décontamination

Les protocoles de décontamination des véhicules étaient comparables dans les cinq sites, comprenant un lavage avec détersion puis un décapage haute pression et au moins une désinfection par pulvérisation. Les désinfectants employés étaient tous virucides aux doses employées, et dans quatre abattoirs, les produits indiquaient une efficacité démontrée *in vitro* spécifiquement contre les virus IA de type H5N1 (selon la norme EN 14675). La décontamination était généralement réalisée par le chauffeur avec les moyens mis à disposition par l'abatteur. La décontamination de la cabine était laissée à la responsabilité du chauffeur sans protocole recommandé, hormis pour le tapis de sol qui était sorti et traité comme le reste du camion. Les chauffeurs avaient diverses pratiques pour la désinfection de la cabine : lingettes, vinaigre blanc, fumigation après la journée de travail.

Les abattoirs étaient équipés de tunnels pour le lavage des caisses et des supports roulants, sauf la plateforme. De nouveau, les protocoles de N&D étaient assez similaires dans les cinq sites: application d'un détergent alcalin, décapage haute pression suivi d'une à deux désinfections avec un produit virucide. La qualité du lavage était immédiatement contrôlée visuellement dans deux abattoirs, ce qui permettait de procéder à un nettoyage et une désinfection complémentaires en cas de résultat insatisfaisant. Les caisses décontaminées étaient directement rechargées sur les camions, sans séchage.

Par rapport à 2017, les protocoles de décontamination des caisses, bien que variables selon les abattoirs, intégraient tous une phase de détersion. L'utilisation d'eau chaude était systématique dans les quatre abattoirs alors qu'elle n'était effective que dans deux sur quatre en 2017. Les protocoles de décontamination des véhicules étaient aussi plus complets, avec l'introduction d'une phase de détersion par moussage. Cependant, les cabines demeurent un point à risque avec des prélèvements fréquemment positifs (voir 2.4). Aucune amélioration des pratiques n'a été notée, l'abattoir n'imposant ni procédure spécifique de décontamination ni contrôle du nettoyage. La cabine est un espace dont le nettoyage et la désinfection sont laissées à l'initiative du transporteur.

2.3. Propreté et dénombrements bactériens

La propreté visuelle a été contrôlée sur 80 caisses après N&D, sur des cages prêtes à être rechargées. La propreté visuelle a été jugée satisfaisante pour 67 caisses (84 %), trois abattoirs ayant toutes les cages contrôlées classées « propres ». Un nettoyage moyen ou insatisfaisant a parfois été constaté dans un abattoir et sur la plateforme. Sur cette dernière, les caisses décontaminées étaient stockées à proximité de la réception des animaux vivants et des bennes d'équarrissage : les plumes en suspension dans l'air venaient se déposer sur les cages propres. Les résultats des dénombrements de coliformes thermotolérants par chiffonnage sur fond de caisse étaient inférieurs au seuil de détection (1 UFC/10 cm²) pour 74 prélèvements (92 %). De même, 76 boîtes de contact (95 %) ne présentaient aucune colonie, ce qui correspond à moins d'une UFC pour 24 cm². Aucune contamination résiduelle n'était ainsi détectée par ces deux méthodes pour 73 caisses (91 %). Des résultats moins satisfaisants ont été obtenus pour cinq des dix caisses contrôlées sur la plateforme, avec plus de 10 UFC/cm². Les boîtes de contact pratiquées sur les camions ont permis de détecter une contamination résiduelle inférieure à 1 UFC/cm² sur toutes les surfaces pour six des huit véhicules. Une contamination résiduelle supérieure à 1 UFC/cm² a été détectée sur le plateau d'un camion dans un abattoir et sur les hayon, montant et plateau du camion suivi sur la plateforme de dépeuplement.

2.4. Détection de traces de VIA

Avant décontamination, près de trois quarts des prélèvements sur véhicules (23) et caisses de transport (80) (74/103, 72 %) étaient positifs vis-à-vis du gène M du VIA (Tableau 1). Un des camions étudiés transportait un lot de canard négatif vis-à-vis de l'IA et les caisses et véhicule ont effectivement été contrôlés négatifs avant N&D. Au contraire, tous les autres chargements de canards transportés étaient excréteurs d'IA et le taux de positivité des caisses variaient de 10 % à 100 %. Par ailleurs, les prélèvements sur véhicules (châssis, roues et/ou cabine) ont permis de détecter la présence de génome viral sur tous les camions transportant des canards infectés. Le châssis et le plateau étaient plus souvent contaminés que la cabine ou les roues.

Après N&D, des traces de génome viral ont été détectées dans 28 % des prélèvements (29/105). Le taux de positivité des caisses était de 29 % (23/80) et dans un abattoir, aucune contamination résiduelle n'a été détectée. Ces résultats satisfaisants ont été obtenus sur un lot de caisses initialement peu contaminé (1/10) mais aussi sur un chargement avec 9 caisses sur 10 positives avant N&D. Ces observations montrent que le protocole de décontamination de l'abattoir a été efficace. Au contraire, deux caisses sur 10 ont été détectées positives après N&D sur un camion dans un abattoir alors qu'aucune contamination initiale n'avait été observée sur cette surface. Il est possible qu'une contamination initiale n'ait pas été détectée lors des prélèvements avant lavage. Néanmoins, une contamination croisée peut être aussi survenue lors du

N&D, puisque le lot n'était pas le premier abattu de la journée. Une diminution importante du nombre de prélèvements positifs après décontamination a été observée pour le châssis et le plateau des camions. Cependant, du génome viral était encore détectable dans trois cabines après décontamination, cette zone n'étant pas systématiquement traitée. Dans un cas, la cabine était positive après décontamination alors que le prélèvement était négatif avant, suggérant une contamination au cours du traitement du véhicule.

D'un point de vue méthodologique, la recherche du gène M par rRT-PCR ne permet pas de savoir si l'ARN détecté correspond à la présence de virus infectieux ; celle-ci ne peut être déterminée que par isolement viral. L'avantage de la recherche du gène M par rRT-PCR est sa mise en œuvre beaucoup plus rapide et simple que l'isolement viral, la rendant intéressante pour le suivi de la contamination environnementale et l'évaluation de l'efficacité de la décontamination. L'absence de contamination résiduelle sur plusieurs surfaces testées montre qu'il est possible d'obtenir une élimination complète des traces d'IA et que cet indicateur renseigne correctement sur la qualité de la décontamination.

2.5. Comparaison des méthodes d'évaluation

Une présence résiduelle de génome viral a été observée sur 29 % des caisses alors que ces mêmes caisses ont été jugées « propres » à 84 % et ne présentaient aucune contamination fécale dans 91 % des cas (Tableau 2). Le taux de caisses jugées « propres » était similaire pour les cages positives IA (19/23, 83 %) et pour celles négatives (48/57, 84 %). De même, 87 % des chiffonnages sur des caisses positives IA ne montrait aucune contamination fécale résiduelle contre 95 % des caisses négatives IA. Pour le contrôle bactériologique par empreinte, 91 % des boîtes prélevées sur des caisses positives IA (21/23) ne présentaient aucune colonie contre 96 % (55/57) pour celles prises sur des cages négatives IA. L'ensemble de ces observations montre l'absence de corrélation entre les résultats visuels et bactériologiques d'une part et les résultats virologiques d'autre part.

Concernant le contrôle visuel, il est courant d'observer des résultats non corrélés entre la propreté et les dénombrements microbiologiques (Huneau-Salaün et al., 2010). Le contrôle visuel est une étape préalable aux contrôles microbiologiques ; ces derniers ne sont normalement réalisés que sur des surfaces visuellement propres. Les observations effectuées démontrent que la propreté visuelle, s'il s'agit d'un prérequis, ne constitue pas un indicateur de l'efficacité de la décontamination vis-à-vis du risque IA.

L'absence de corrélation entre les résultats des contrôles bactériologiques et virologiques peut, d'une part, être liée aux choix des surfaces prélevées dans les caisses. Les chiffonnettes et boîtes de contact ont été appliquées sur le fond de caisse alors que les écouvillons pour la recherche virologique ont été passés dans les jointures entre le fond et les parois latérales. Les surfaces contrôlées ne sont donc pas directement comparables et ne présentent pas la même aptitude à la décontamination. D'autre part, les dénombrements bactériens ont porté sur les coliformes thermotolérants qui peuvent être plus fréquemment nuls que ceux des enterocoques thermotolérants sur des surfaces décontaminées. Le dénombrement des entérocoques constituerait donc une méthode plus stricte de contrôle de la décontamination, qu'il pourrait être intéressant de tester en association avec la méthode virologique. La présente étude montre que dans un contexte d'épizootie d'IA, la méthode de dénombrement des coliformes thermotolérants n'est pas un indicateur pertinent de la contamination résiduelle des surfaces par du génome d'IA. A noter également que les prélèvements par boîtes de contact se sont avérés peu adaptés pour les contrôles post-désinfection car les caisses n'étaient pas suffisamment sèches pour une application optimale de la gélose.

CONCLUSION

Cette nouvelle étude a permis d'apporter des éléments de réponse concernant la méthode d'évaluation de l'efficacité de la décontamination vis-à-vis de l'IA. Les méthodes utilisées en routine dans les abattoirs, contrôles visuel et bactériologique, ne renseignent pas sur le risque de persistance de génome viral sur les caisses. Il est donc nécessaire de procéder à la recherche par rRT-PCR du gène M du VIA pour évaluer les procédures de décontamination vis-à-vis de ce risque spécifique. Par rapport à l'étude menée en 2017, les procédés de décontamination des abattoirs ont été améliorés, avec l'intégration systématique d'une phase de détersion dans le nettoyage des caisses et des véhicules. Les résultats demeurent néanmoins variables selon les abattoirs, des risques de contaminations croisées liés à des contraintes structurelles étant encore présents.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Huneau-Salaün A. et al., 2010. Brit. Poult. Sci., 51(2): 204-212.
Huneau-Salaün A. et al., 2017. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation n°80 (2), 6-9.

Tableau 1. Détection du génome de viral d'IA avant et après décontamination de huit véhicules de transport de canards (5 abattoirs, France, 2021)

	Avant décontamination N=103*				
	Résultats rRT-PCR gène M			Valeur Ct rRT-PCR gène M	
	non détecté	détecté	% détection	mediane	min-max
Cabine	3	5	62	35.3	34.9-37.2
Châssis extérieur	1	7	87	35.1	29.3-39.9
Roues	5	3	38	37.1	35.4-37.1
Caisses	20	59	75	32.1	26.2-37.4
Total	29	74	72	32.8	26.2-39.9
	Après décontamination N=105*				
	Résultats rRT-PCR gène M			Valeur Ct rRT-PCR gène M	
	non détecté	détecté	non détecté	détecté	min-max
Cabine	5	3	38	37.1	35.3-39.6
Châssis extérieur	7	2	22	34.2	32.3-36.2
Roues	7	1	12	36.6	
Caisses	57	23	29	36.4	31.1-38.2
Total	76	29	28	36.4	31.1-39.6

*Le nombre de prélèvements diffère avant et après décontamination à cause des contraintes de réalisation : deux prélèvements n'ont pas été faits avant N&D pour ne pas ralentir la mise en œuvre du nettoyage par l'opérateur

Tableau 2. Résultats des contrôles visuels et microbiologiques (dénombrement des coliformes thermotolérants) sur caisses de transport de canards en fonction de la détection de génome viral d'IA après décontamination (80 caisses, 5 abattoirs, France, 2021)

Méthode	Classe	Recherche gène M par RT-PCR	
		négatif	positif
Contrôle visuel	propre	48	19
	moyen	5	4
	sale	4	
Contrôle microbiologique par chiffonnette	< seuil détection	54	20
	<10 UFC/cm²	1	
	<100 UFC/cm²	1	3
	indénombrable	1	
Contrôle microbiologique par boîtes de contact	< seuil détection	55	21
	<1 UFC/cm²		1
	<10 UFC/cm²	1	
	indénombrable	1	1

ANALYSE PHYLOGENETIQUE DE VIRUS INFLUENZA AVIAIRE H5 HAUTEMENT PATHOGENES EN FRANCE DURANT L'EPIZOOTIE 2020-21

François-xavier Briand[1], Pascale Massin[1], Claire Martenot[1], Martine Cherbonnel-Pansart[1], Katell Louboutin[1], Rachel Busson[1], Chantal Allee[1], Carole Guillemoto[1], Florent Souchaud[1], Isabelle Pierre[1], Hélène Quenault[1], Pierrick Lucas[1], Yannick Blanchard[1], Nicolas Eterradossi[1], Anne Van de Wiele[2], Axelle Scoizec[1], Sophie Le Bouquin-Leneveu[1], Séverine Rautureau[3], Yves Lambert[3], Audrey Schmitz[1], Eric Niqueux[1], Béatrice Grasland[1]

[1]Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, 22440 Ploufragan, France
[2]Office français de la biodiversité, 94300 Vincennes, France
[3]Direction Générale de l'Alimentation, 75732 Paris, France

Francois-xavier.briand@anses.fr

RÉSUMÉ

Depuis 1996, les virus de l'influenza aviaire (IA) H5 hautement pathogènes (HP) de la lignée A/goose/Guangdong/1/96 (Gs/GD/96) provoquent des épizooties récurrentes avec des taux de mortalité élevés chez les oiseaux sauvages et domestiques. L'Europe a connu des introductions majeures au cours des années 2005-2007 et 2014-2020. De novembre 2020 à juillet 2021, 519 cas d'infection par des virus IAHP A(H5) appartenant au clade 2.3.4.4b ont été détectés en France. Le premier cas d'IAHP A(H5N8) en France a été confirmé le 16 novembre 2020 chez des poulets dans une animalerie en Corse. Après cette date, 10 autres détections de virus IA HP A(H5) ont été confirmés à partir des liens épidémiologiques du premier foyer. Par la suite, de nombreux autres virus HP A(H5) ont également été détectés principalement dans des élevages de canards du Sud-Ouest de la France mais également de manière sporadique dans le reste de la France chez des oiseaux sauvages et domestiques. L'analyse des séquences génomiques virales a indiqué que 3 sous-types de virus HP A(H5) ont été détectés (H5N1, H5N3, H5N8), mais le sous-type H5N8 était largement majoritaire. Tous les virus A(H5N8) français présentaient le même génotype, à l'instar de la majorité des virus IAHP A(H5N8) détectés en Europe. Les analyses phylogénétiques des virus HP A(H5N8) ont aussi révélé que les séquences françaises étaient distribuées en 9 génogroupes, suggérant 9 introductions potentielles en France.

ABSTRACT

Phylogenetic analyses of highly pathogenic H5 avian influenza viruses in France during epizootic period 2020-21

Since 1996, highly pathogenic (HP) H5 avian influenza (AI) viruses of the A/goose/Guangdong/1/96 (Gs/GD/96) lineage have caused recurrent outbreaks with high death rates in wild and domestic birds. Europe experienced major introductions during the 2005–2007 and 2014–2020 periods. From November 2020 to July 2021, 519 cases of infections with HP H5 belonging to clade 2.3.4.4b were detected in France. The first case of HPAI A(H5N8) in France was confirmed on the 16th November 2020 from a chicken in a pet store in Corsica. Since this date, 10 other HPAI A(H5) cases were confirmed investigations following epidemiological links with the first detection. In addition, many other HP A(H5) viruses were also detected from mainly domestic duck farms in South-Western of France and sporadically in other regions of France from wild and domestic birds. Viral genome sequences indicated that 3 subtypes of HPAI A(H5) were detected (H5N1, H5N3, H5N8), but H5N8 subtype was the overwhelmingly the major one. All French viruses exhibited the same genotype, similarly to the most of HPAI A(H5N8) viruses detected in Europe. Phylogenetic analyses of HPAI A(H5N8) viruses revealed that French sequences were distributed into 9 genogroups, suggesting 9 potential introductions of this virus in France.

INTRODUCTION

Depuis août 2020, la Russie, le Kazakhstan et l'Europe ont de nouveau été confrontés à une épizootie d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) due à des virus A(H5). À l'heure actuelle, au moins 5 sous-types de virus de l'IAHP (H5N8, H5N1, H5N3, H5N4 et H5N5) ont été identifiés, parmi lesquels au moins 19 génotypes ont été décrits ; le sous-type A(H5N8) dont le génotype A était le plus représenté (EFSA, 2021). Ces virus possèdent tous un segment HA appartenant au clade 2.3.4.4b de la lignée A/goose/Guangdong/1/1996. Fin mars 2021, plus de 1800 signalements chez des oiseaux sauvages et de 800 foyers chez les volailles ont été rapportés en Europe. La majorité des virus IAHP détectés en élevage d'octobre 2020 à mars 2021 l'ont été en France (n=490 au 29/03/2021), dont la quasi-totalité dans les élevages de canards (filière palmipèdes gras) du Sud-Ouest de la France (n=475). Le séquençage d'une partie des virus issus de différents foyers et de cas en avifaune sauvage en France a permis d'étudier la diversité virale observée et d'en déduire, après comparaison avec les autres séquences disponibles au niveau international, les potentielles introductions sur le territoire français

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Détection, sous-typage et pathotypage moléculaire.

Pour chaque suspicion d'influenza aviaire hautement pathogène sur des oiseaux sauvages ou domestiques, ainsi que sur les élevages en lien avec des cas déjà confirmés, des écouvillons trachéaux et cloacaux ont été réalisés. Les ARN viraux ont été extraits à partir de mélanges de 5 surnageants d'écouvillons au maximum (RNeasy mini kit, Qiagen). Ces ARN ont ensuite été testés en RT-PCR temps réel (rRT-PCR) gène M ainsi qu'en rRT-PCR gène H5 par les laboratoires départementaux agréés. Les échantillons criblés positifs ont ensuite été transférés au Laboratoire national de Référence pour l'Influenza aviaire (LNR IA, Anses-Ploufragan-Plouzané-Niort) pour la réalisation des rRT-PCR spécifiques du gène H5 de clade 2.3.4.4b et du gène N8. La séquence nucléotidique encadrant la zone du site de clivage de l'hémagglutinine a également été determiné par RT-PCR point final gène H5 Kha1/Kha3 et séquençage (Slomka et al., 2007) afin de déterminer le pathotype (séquençage de la zone codant le site de clivage de l'hémagglutinine).

1.2 Séquençage complet des génomes viraux

Le séquençage des génomes complets a été programmé sur les virus issus de tous les cas d'IAHP français que ce soit chez les oiseaux sauvages ou domestiques. Pour chacun des cas, l'échantillon possédant la valeur de Ct la plus faible en rRT-PCR de criblage (charge génomique la plus forte) a été sélectionné. Les 8 segments viraux ont été amplifiés par RT-PCR (Zhou et al., 2009). Après préparation des librairies, les amplicons ont été séquencés sur un séquenceur Ion Proton (life technologies). Les reads obtenus ont alors été nettoyés par le logiciel Trimmomatic 0.32 (Bolger et al., 2014) puis ont été alignés avec un génome de référence par le logiciel Bowtie 2 (Langmead et al., 2009) afin d'obtenir une séquence consensus. Ces séquences consensus ont alors été comparées avec les séquences recréées par assemblage *de novo*.

1.3. Phylogénie des génomes viraux

Les analyses phylogénétiques des virus IAHP A(H5N8) ont été réalisées sur les 8 segments viraux concaténés puis alignés par ClustalW. Une vérification préliminaire qu'aucun virus IAHP A(H5N8) réassortant n'était présent a été entreprise grâce au logiciel RDP4. Les séquences des virus HP A(H5N8) identifiés en France ont été comparées aux séquences virales d'IAHP A(H5N8) européens, russes et kazakhs de la même période épizootique et disponibles dans les banques de données internationales. L'analyse phylogénétique a ensuite été réalisée par la méthode de Neighbor-joining avec le modèle Tamura-3-parametres ainsi que 1000 réplicats de bootstrap.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Chronologie de détection des IAHP H5

Le 10 novembre 2020, des signes cliniques évocateurs d'IAHP ont été observés sur des poulets, des canards et des paons dans une animalerie en Corse, France. Après un criblage positif en rRT-PCR gène M et gène H5, la présence du virus IAHP A(H5N8) a été confirmée. Par la suite, les détenteurs d'oiseaux en lien épidémiologique direct ou indirect avec ce premier cas ont été investigués. Au total, 10 cas d'IAHP A(H5N8) liés à la première détection ont été confirmés, 8 dans les départements de Haute-Corse-2B et de Corse-du-Sud-2A, 1 dans le département des Yvelines-78 et 1 échantillon environnemental dans le département du Nord-59. Selon l'enquête épidémiologique menée par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, l'hypothèse la plus probable était que les cas corses (départements de Haute-Corse-2A et de Corse-du-Sud-2B) avaient été contaminés du fait d'un transport d'oies infectées provenant du détenteur d'oiseaux d'ornements du département Nord-59. Par la suite, des virus IAHP A(H5) ont également été détectés en France chez des

oiseaux sauvages, des oiseaux captifs et chez des volailles, touchant notamment les deux principales zones de production de canards de l'Ouest et du Sud-Ouest de la France (Anses, 2017). Le nombre de cas d'IAHP A(H5) par semaine détectés en France a été variable pendant la période d'épizootie en France. Pendant 7 semaines consécutives (semaines 45 à 51 de 2020), entre 2 et 5 confirmations hebdomadaires d'IAHP A(H5) ont été diagnostiquées, provenant principalement d'établissements avicoles commerciaux d'oiseaux d'ornements et d'oiseaux sauvages. Par la suite, malgré les mesures de contrôle mises en place, le nombre de cas par semaine a augmenté rapidement pour atteindre un maximum de 147 cas confirmés en semaine 2 de 2021, presque exclusivement en provenance du Sud-Ouest de la France (Figure 1). Cette augmentation soudaine était due à l'introduction du virus d'IAHP A(H5) dans la zone à forte densité d'élevages de canards du Sud-Ouest de la France où un nombre important de canards domestiques étaient encore élevés en plein air alors même que le confinement de toutes les volailles était déjà requis (période de risque élevé d'influenza aviaire) (Anses, 2021). Après la semaine 6 de 2021, le nombre de cas a diminué pour atteindre moins de 13 cas d'IAHP A(H5) par semaine. La dernière détection a eu lieu le 2 juillet 2021, neuf semaines après la précédente détection du virus IAHP en France (Figure 1). Au total, du 10 novembre 2020 au 2 juillet 2021, 519 cas d'HP A(H5) ont été détectés en France, 24 chez des oiseaux sauvages, 2 chez des oiseaux captifs, 492 chez des volailles (très majoritairement localisées dans le sud-ouest de la France) et un dans des échantillons environnementaux. 462 virus ont été identifiés comme étant des virus IAHP A(H5N8), trois ont été identifiés comme étant des virus IAHP A(H5N3) provenant de bécasseaux maubèche et de courlis cendrés, un seul a été identifié comme étant un virus IAHP A(H5N1) provenant d'une oie bernache (figure 2).

2.2 Analyses phylogénétiques

L'analyse des génomes montre que les virus français d'IAHP A(H5N8) appartenaient au cours de l'épisode 2020-2021 au génotype A, ce qui correspond au génotype le plus fréquemment détecté parmi les sept génotypes de virus IAHP A(H5N8) décrits en Europe l'hiver dernier (Fusaro et al., 2021). L'analyse phylogénétique des génomes concaténés démontre que les virus français se répartissent en 9 génogroupes, ce qui suggère qu'au moins neuf introductions indépendantes de virus IAHP A(H5N8) ont eu lieu en France. Le premier génogroupe était le plus important en nombre de détections et en distribution géographique. En effet, il comprend la quasi-totalité des cas d'infection détectés avant le 9 janvier 2021. Ce premier génogroupe viral présentait une large répartition géographique incluant des cas détectés dans les départements français 2A, 2B, 13, 14, 40, 44, 54, 65, 79 et 85 (Figure 2). Les séquences de ce génogroupe étaient étroitement liées aux séquences des virus détectés en fin d'année 2020 en Angleterre, en Belgique, en Irlande et aux Pays-Bas. Tous les autres génogroupes phylogénétiques (notés 2 à 9) n'ont été détectés que sporadiquement sur le territoire français, avec de 1 à 6 détections pendant la période épizootique, sur des oiseaux de basse-cour, des oiseaux captifs ou des oiseaux sauvages. Pour les génogroupes détectés à plusieurs reprises, ces détections ont eu lieu dans des zones géographiques réduites et sur un pas de temps réduit, à l'exception du génogroupe 5. En effet, les deux séquences du génogroupe 5 ont été identifiées dans le Nord de la France à la mi-mars 2021 et dans le Loiret-45 en juillet 2021, à plus de 3 mois d'intervalle. Ce résultat suggère une possible circulation inapparente de virus appartenant à ce génogroupe viral pendant quelques mois en France, probablement chez des oiseaux sauvages résidents ou commensaux, ou bien une persistance de virus A(H5N8) infectieux dans l'environnement.

2.3 Evolution de l'épizootie d'IAHP A(H5) 2020-2021

En France, l'épizootie d'IAHP A(H5) de 2020-21 a été globalement très similaire à la précédente épizootie d'IAHP A(H5) de 2016-17 (Ramey et al., 2021). En effet, au cours de ces deux périodes épizootiques, environ 500 cas d'IAHP A(H5N8) ont été identifiés. De plus, les cas ont été essentiellement détectés dans les élevages de canards du Sud-Ouest de la France (qui est une zone à haut risque de transmission de l'influenza aviaire entre établissements avicoles en raison du grand nombre d'élevages de palmipèdes regroupés sur un nombre réduit de communes (élevages essentiellement basés sur l'élevage plein air) et seulement à quelques reprises dans le reste de la France chez des oiseaux sauvages et des volailles. Mais contrairement à 2016-17, quatre cas d'IAHP A(H5N8) ont été détectés dans des élevages de canards domestiques dans une autre zone à forte densité d'élevages de canards du Nord-Ouest de la France. Cette introduction du virus dans cette zone n'a pas été suivie d'une augmentation des cas d'IAHP A(H5N8) comme dans la zone du Sud-Ouest (figure 2). Cette différence de propagation virale entre ces deux zones peut s'expliquer par les différences dans les structures et les conditions d'élevages des canards. La surveillance de l'influenza aviaire en France, notamment pour les élevages de canards, reste essentielle pour limiter la propagation des virus IA et les pertes économiques de la filière avicole (pertes qui ont été estimé à 500 millions € lors des épizooties d'IAHP). Cette surveillance est d'autant plus

importante que ce virus peut présenter selon les conditions de protection utilisées un potentiel zoonotique, comme cela a été décrit en Russie en décembre 2020 lors d'une forte exposition à des volailles infectées. Enfin, le séquençage complet du génome des virus IAHP permet d'identifier les relations génétiques entre les virus et suggère plusieurs introductions virales en France ainsi que l'existence de liens épidémiologiques ou de chaînes de transmission au niveau national ou entre les élevages.

CONCLUSION

En résumé, durant toute la période épizootique 2020-21 en France, 11 introductions virales d'IAHP A(H5) ont été identifiées, neuf à partir de virus IAHP A(H5N8), une à partir de virus A(H5N1) et une à partir de virus A(H5N3), le sous-type H5N8 identifié chez des volailles, d'oiseaux sauvages et d'oiseaux captifs et les sous-types H5N1 et H5N3 chez des oiseaux sauvages uniquement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Evaluation des niveaux de risque influenza aviaire et leur évolution. 2017. https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2017SA0203-partie2.pdf

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Retour d'expérience sur la crise influenza aviaire hautement pathogène 2020-2021. 2021. https://www.anses.fr/fr/system/files/SABA2021SA0022.pdf

European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control and European Union Reference Laboratory for Avian Influenza, Adlhoch C, Fusaro A, Gonzales JL, Kuiken T, Marangon S, Niqueux É, Staubach C, Terregino C, Muñoz Guajardo I, Lima E, Baldinelli F. Avian influenza overview May - September 2021. EFSA J. 2021 Mar 3;19(3):e06497.

Fusaro AT, C. Update on the genetic characteristics of HPAI H5NX and analyses of the situation of HPAI in wild birds in Europe in 2020-2021. 2021. https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-06/reg-com_ahw_20210617_hpai_eurl.pdf

Ramey AM, Reeves AB, Lagasse BJ, Patil V, Hubbard LE, Kolpin DW, et al. Evidence for interannual persistence of infectious influenza A viruses in Alaska wetlands. Sci Total Environ. 2021 Sep 3;803:150078.

Slomka MJ, Coward VJ, Banks J, Löndt BZ, Brown IH, Voermans J, Koch G, Handberg KJ, Jørgensen PH, Cherbonnel-Pansart M, Jestin V, Cattoli G, Capua I, Ejdersund A, Thorén P, Czifra G. Identification of sensitive and specific avian influenza polymerase chain reaction methods through blind ring trials organized in the European Union. Avian Dis. 2007 Mar;51(1 Suppl):227-34.

Zhou B, Donnelly ME, Scholes DT, St George K, Hatta M, Kawaoka Y, et al. Single-reaction genomic amplification accelerates sequencing and vaccine production for classical and Swine origin human influenza a viruses. J Virol. 2009;83:10309–13.

Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics. 2014 Aug 1;30(15):2114-20.

Langmead B, Trapnell C, Pop M, Salzberg SL. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. Genome Biol. 2009;10(3):R25.

Figure 1. Distribution temporelle du nombre de virus IA A(H5) détectés par semaine en France entre le mois de Novembre 2020 et le mois juillet 2021.

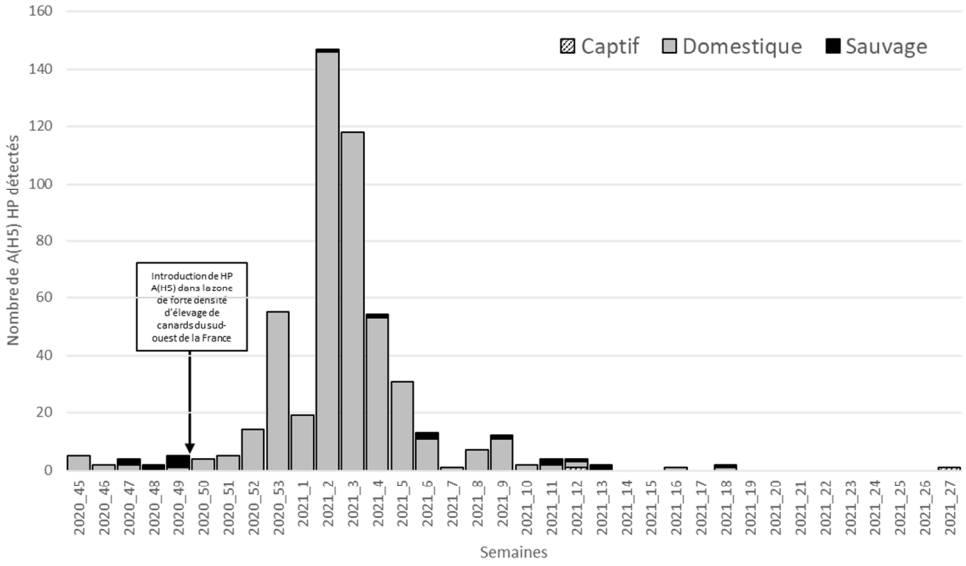
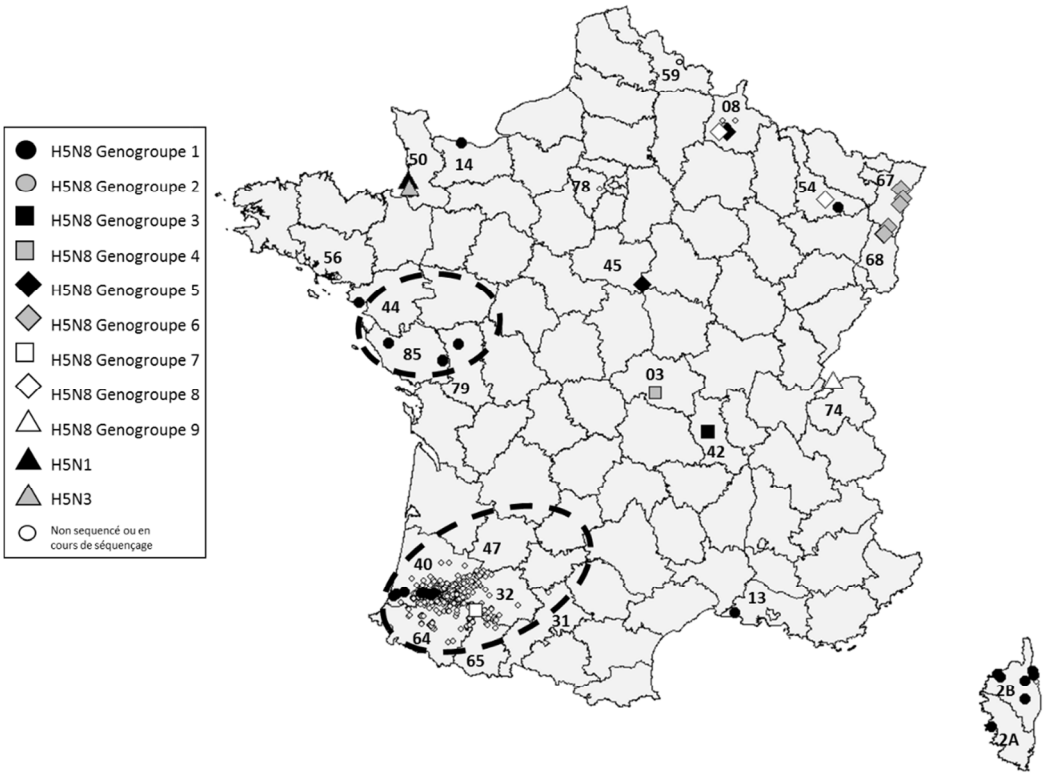


Figure 2. Répartition géographique des sous-types IAHP A(H5) et des génogroupes de IAHP A(H5N8) détectés en France entre le mois de Novembre 2020 et le mois juillet 2021



OUTILS DE GÉNOMIQUE POUR LA SURVEILLANCE « EN TEMPS RÉEL » DES VIROSES AVIAIRES ÉMERGENTES ET RÉÉMERGENTES

Guillaume Croville[1], Mathilda Walch[1], Debapriyo Chakraborty[1], Adam Jbenyeni[1], Laetitia Lèbre[1], Sonia Silva[1], Fabien Filaire[1], Timothée Vergne[1] & Jean-Luc Guérin[1]

[1]Universite de Toulouse, ENVT, INRAE, UMR IHAP, 23 chemin des capelles, 31076 Toulouse, France
guillaume.croville@envt.fr

RÉSUMÉ
Afin d'ouvrir la voie du diagnostic de proximité depuis la prise en charge de l'échantillon jusqu'à la caractérisation génétique des agents pathogènes impliqués et leur analyse phylogénétique, des protocoles de métagénomique permettant le séquençage de génomes entiers d'avipoxvirus ou d'aviadénovirus ont déjà été développé. Ceux-ci faisaient appel à l'utilisation du séquençage de troisième génération Oxford Nanopore. Dans le but d'adapter ces méthodes à d'autres virus aviaires (coronavirus aviaires, virus de l'influenza aviaire), nous avons développé un protocole combinant la PCR multiplex et le séquençage Oxford Nanopore, à l'aide du séquenceur Mk1C, pour une détection couplée à un typage rapide des virus impliqués dans un épisode clinique. La méthode proposée est basée sur une approche intégrée « du terrain à la bioinformatique ». Une variété d'échantillons biologiques, y compris des écouvillons trachéaux, des tissus, ou des poussières, a été testée, ce qui a permis de proposer une première version de cette méthode innovante de surveillance. Grace au séquençage nanopore des produits de PCR ciblant le génome des virus influenza aviaires, des génomes complets ont été obtenus en moins de 48 heures et sans avoir à réaliser de culture virale. Aussi, des génomes complets de coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire issus d'écouvillons prélevés lors d'épisodes cliniques ont été obtenus par métagénomique. L'analyse bioinformatique de ce travail a été réalisée avec les outils Minimap2 pour les alignements, iVar pour la production de séquences consensus et NanoSPC pour la métagénomique.
Les résultats obtenus suggèrent des temps d'analyses très courts pour l'obtention de génomes complets directement à partir d'échantillons primaires de terrain. L'application de telles méthodes pour la surveillance de viroses aviaires pourrait permettre un suivi en « temps réel » des épizooties.

ABSTRACT
Genomics tools for "real-time" monitoring of emerging and re-emerging avian viruses
In order to develop diagnostic methods from the handling of the sample to the genetic characterization of the pathogens involved and their phylogenetic analysis, we previously developed metagenomics protocols allowing the whole genome sequencing of avipoxvirus or aviadenovirus through the use of Oxford Nanopore third generation sequencing technology. In order to adapt these methods to other avian viruses (avian coronaviruses, avian influenza viruses), we have developed a protocol combining multiplex PCR and Oxford Nanopore sequencing, with the Mk1C sequencing device, for the pathogen detection coupled with a rapid typing. The proposed method is based on an integrated approach "from the field to bioinformatics", allowing rapid detection and typing of avian viruses. A variety of clinical samples, including tracheal swabs, tissues, or dust, has been tested and allowed us to introduce a first version of this innovative method of surveillance. Thanks to nanopore sequencing of PCR products targeting the avian influenza viruses' genomes, the whole genomes were sequenced in less than 48 hours without viral culture. Complete genomes of avian infectious bronchitis coronaviruses from swabs collected during clinical outbreaks were also obtained using metagenomics. The bioinformatics analysis of this work was carried out with Minimap2 for alignments, iVar for the production of consensus sequences and NanoSPC for metagenomics. The results obtained in this study suggest very short analysis times to obtain complete genomes directly from field samples. The application of such methods for the surveillance of avian viruses could allow "real time" monitoring of epizootics.

INTRODUCTION

Les élevages de volailles sont en permanence confrontés à des émergences virales pouvant être à l'origine d'infections systémiques et de sévères affections respiratoires. Les épizooties d'influenza aviaire hautement pathogène survenues ces dernières années ou encore les émergences de divers coronavirus aviaires soulignent la nécessité de disposer d'outils de séquençage et d'analyse bio-informatique fiables, rapides et proches du terrain.
La détection précoce des maladies infectieuses est une clef de la biosécurité, car elle permet d'adapter les mesures de contrôle avant la diffusion au sein d'une unité (élevage) ou à l'échelle d'un territoire. L'application rapide des mesures limite ainsi à la fois l'expansion et la dérive génétique des agents infectieux.
Le diagnostic virologique fait classiquement appel aux techniques directes et indirectes, et en particulier la PCR et le séquençage des acides nucléiques permettant la détection, la détermination de la charge et le typage (plus ou moins précis), voire l'étude de chaines de transmissions pour certaines applications.

Le séquençage de troisième génération Oxford Nanopore Technologies (ONT) a été largement déployé ces dernières années grâce à la portabilité des séquenceurs MK1b et MK1c et aux volumes de données qu'ils génèrent (le débit théorique d'une *flow cell* MinION étant de plusieurs dizaines de gigabases) qui sont adaptés à des projets de diagnostic rapide.

Cependant, la sensibilité globale des approches de séquençage direct ONT sans a priori dépend grandement de l'efficacité de la purification des acides nucléiques (AN) et des abondances absolue et relative des gènes cibles dans l'échantillon collecté. En effet, les agents pathogènes responsables d'infections systémiques peuvent exister à très faible charge dans les liquides biologiques, sous forme de microorganismes intègres ou sous forme d'AN libres. Par conséquent, un échantillon à faible concentration relative en agents pathogènes (par rapport aux AN totaux) doit être analysé par séquençage à très haut débit (ou séquençage de nouvelle génération, NGS) pour obtenir une quantité suffisante de données.

Le traitement des échantillons et la préparation des banques d'AN à séquencer sont les verrous majeurs pour gagner en séquences d'intérêt dans les jeux de données. Cette étude, centrée sur l'analyse des virus à ARN, ceux de l'influenza aviaire (VIA) et de la bronchite infectieuse aviaire (BI), a porté sur le développement et l'application d'outils de biologie moléculaire et de bio-informatique.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Extraction des ARN viraux

Les échantillons ont été traités dans le strict respect de la procédure de biosécurité (échantillons infectés par des virus influenza aviaires hautement pathogènes traités en laboratoire BSL3). Les écouvillons trachéaux, les fragments d'organes et les chiffonnettes (pour la récupération des poussières présentes sur les murs, mangeoires et abreuvoirs) ont été placés dans du PBS 1X avant extraction de l'ARN viral à l'aide du kit ID Gene® Mag Fast Extraction Kit. L'ARN viral a ensuite été stocké à -80°C.

1.2. Amplification des acides nucléiques

1.2.1. Démarche SISPA

Les ARN viraux de BI ont été aléatoirement rétrotranscrits selon la méthode SISPA (*Sequence-Independant, Single-Primer Amplification*) qui consiste à générer des ADN complémentaires double-brin. Le protocole appliqué a été adapté de Greninger et al., 2015.

1.2.2. Démarche PCR multiplex (mPCR)

Les ARN viraux influenza ont été préalablement été détectés à l'aide du kit ID Gene Influenza A (IDvet) puis amplifiés selon une méthode combinant deux approches : (i) l'amplification des régions encadrant le site de clivage de l'hémagglutinine (HA) à l'aide d'un jeu de 20 couples d'amorces de PCR et (ii) l'amplification du génome complet à l'aide d'amorces universelles spécifiques des extrémités 3' et 5' des ARN viraux (MBT-uni12 [5' - ACGCGTGATCAGCAAAAGCAGG] / MBT-uni13 [5_-ACGCGTGATCAGTAGAAACAAGG], (Zhou et al., 2012)).

Les ARNv ont été rétrotranscrits à l'aide du kit RevertAid (Thermofisher) et 1,5 µl d'amorce Uni-12 à 10 µM, puis amplifiés en présence des deux jeux d'amorces en utilisant l'ADN polymérase Phusion™ High–Fidelity (ThermoFisher Scientific), en suivant les instructions des fournisseurs.

Le programme de PCR a été réalisé comme suit : 3mn à 94°C, 5 cycles [45s à 94°C, 45s à 45°C et 2mn à 72°C], 30 cycles [45s à 94°C, 45s à 55°C et 2mn 30s à 72°C], 10mn à 72°C. Les produits de PCR ont été contrôlés sur gel d'agarose et quantifiés au Qubit (ThermoFisher Scientific).

1.3 Préparation des banques d'ADN à séquencer

Les banques d'ADN ont été préparées à l'aide d'un kit de séquençage SQK-LSK109 fourni par ONT associé au kit de multiplexage EXPNBD104 (ONT). Les banques ont été déposées sur *flow cell* MinION ou *flongle* selon la quantité d'échantillons à analyser. Les *runs* de séquençage ont été réalisés sur MinION Mk1C (ONT) et le *basecalling* (conversion du signal brut en séquence nucléotidique) a été effectué en temps réel avec Guppy (v3.5).

1.4. Analyse bio-informatique

Les alignements des séquences obtenues au format Fastq ont été réalisés avec l'outil Minimap2 (Li, 2018) ainsi que la suite Samtools (Li et al., 2009) et la visualisation graphique des alignements avec IGV (Robinson et al., 2011).
Les séquences consensus ont été obtenues avec iVAr (Grubaugh et al., 2019) et inspectées en utilisant Bioedit (v7.2.6).
L'analyse métagénomique sans *a priori* a été réalisée à l'aide de NanoSPC (Xu et al., 2020) mais également par un alignement Minimap2 sur une base de données affinée, constituée de séquences de référence pertinentes, et en analysant les résultats d'alignements avec l'option idxstats de Samtools.

2. RESULTATS

2.1 Influenza aviaire

La méthodologie de mPCR décrite ci-dessus a été appliquée à une série de 11 échantillons (écouvillons trachéaux ou chiffonnettes) prélevés dans le sud-ouest et l'ouest de la France durant l'épizootie 2020-2021 d'influenza aviaire, les élevages prélevés ayant été au préalable déclarés comme foyers d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) par les autorités sanitaires. Les génomes complets des 11 échantillons ont été obtenus après 4 heures de séquençage ONT, avec une profondeur de lecture du site de clivage de la HA supérieure à 1000X, soit plus de 1000 séquences couvrant cette région du génome. Les données de séquences dédiées à la HA s'étendaient de 0.36 Mb à 45.34 Mb (Tableau 1).
L'analyse des séquences de HA a permis de typer les prélèvements comme appartenant au sous-type H5N8 et de déterminer leur profil hautement pathogène sur la base du profil génétique du site clivage de la HA, c'est-à-dire une suite de résidus d'acides aminés polybasiques. L'analyse phylogénétique des séquences de la HA a quant à elle permis d'identifier trois génotypes distincts corrélés aux zones géographiques de prélèvement ou bien à la temporalité du prélèvement, c'est-à-dire une discrimination des échantillons sur la base de la séquence complète de chaque HA entre : (i) six prélèvements des Landes de décembre 2020 (groupe A, figure1), (ii) deux prélèvements de Vendée et Deux-Sèvres de décembre 2020 (groupe C, figure 1) et (iii) quatre prélèvements de Hautes-Pyrénées et du Gers effectués en janvier et février 2021 (groupe B, Figure 1).

2.2 Bronchite infectieuse aviaire

Un panel de 10 prélèvements sous forme d'écouvillons trachéaux ou de carte FTA ont été soumis à une analyse de type métagénomique grâce à laquelle des génomes complets ou partiels ont été générés. Ces résultats ont permis d'effectuer un typage rapide des virus de BI circulants afin de déterminer s'il s'agissait de la souche vaccinale ou d'une souche sauvage, et pour certains cas identifier des évènements de recombinaison génétique (données non montrées).

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Le couplage de la métagénomique et de la PCR multiplex présenté dans ce travail est justifié par le fait qu'il est techniquement plus complexe d'obtenir des séquences virales sans réaliser d'enrichissement en séquences d'intérêt. Aussi, concernant les VIA, il est primordial de se focaliser sur le site de clivage de la HA afin de pouvoir obtenir a minima l'information de type et de pathotype, même dans le cas d'un échantillon pauvre en matériel viral ou dans le cas où celui-ci serait dégradé.
Malgré un taux d'erreur proche de 10% en séquençage nanopore, la profondeur de lecture supérieure à 10X était suffisante pour obtenir des séquences consensus de qualité située entre 99% et 100% (Xu et al., 2021).
Le processus complet depuis l'extraction des acides nucléiques jusqu'à l'analyse des séquences est réalisable en moins de 48 heure. Cette méthodologie ayant permis de grouper les échantillons d'influenza sur la base de la variabilité génétique du gène HA, nous la considérons comme un moyen efficace de surveillance de la circulation des virus influenza aviaires. Des analyses de phylodynamique sont à prévoir pour établir des liens entre les différentes introductions de ce virus et définir les chaines de transmission.

La technique de mPCR reste incontournable pour générer dans des délais très courts et de façon spécifique des génomes complets à partir d'échantillons cliniques, cette méthode a été privilégiée pour l'amplification des VIA afin de pouvoir séquencer des génomes présents en faibles quantités dans les échantillons (exemple : CT gène M = 28,5 ; cf. Tableau 1). La métagénomique a été appliquée aux prélèvements de bronchite infectieuse car les charges virales étaient élevées, ce qui ne nécessitait pas d'amplification préalable (données non montrées). C'est une méthode qui, bien qu'elle soit complexe à mettre en œuvre, permet le cas échéant d'informer sur les coinfections que ce soit dans le cadre de surveillance virale ou d'analyse syndromique.

Enfin, les outils de bioinformatique utilisés dans ce travail ont permis de générer des alignements et des séquences consensus de génomes complets en quelques minutes, permettant par exemple de typer les souches virales détectées ou de réaliser des analyses phylogénétiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Greninger A, Naccache S, Federman S, Yu G, Mbala P, Bres V, Stryke D, Bouquet J, Somasekar S, Linnen J, Dodd R, Mulembakani P, Schneider B, Muyembe-Tamfum JJ, Stramer S, Chiu C, 2015. In: Genome Med 7, 99.

Grubaugh N, Gangavarapu K, Quick J, Matteson N, Goes De Jesus J, Main B, Tan A, Paul L, Brackney D, Grewal S, Gurfield N, Van Rompay K, Isern S, Michael S, Coffey L, Loman N, Andersen K , 2019. In: Genome Biol 20, 8.

Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R, and 1000 Genome Project Data Processing Subgroup, 2009. In: Bioinformatics 25(16) 2078-9.

Li H, 2018. In: Bioinformatics, Volume 34, Issue 18, Pages 3094–3100.

Robinson J, Thorvaldsdóttir H, Winckler W, Guttman M, Lander E, Getz G, Mesirov J, 2011. In: Nature Biotechnology 29, 24–26.

Xu Y, Yang-Turner F, Volk D, Crook D, 2020. In: Nucleic Acids Research, Volume 48, Pages W366–W371.

Xu Y, Lewandowski K, O Downs L, Kavanagh J, Hender J, Lumley S,Jeffery K, Foster D, Sanderson N, Vaughan A, Morgan M, Vipond R, Carroll M, Peto T, Crook D, Walker S, Matthews P, Pullan S, 2021. In: Eurosurveillance 26.

Zhou B, Wentworth DE, 2012. In: Methods Mol Biol. 2012;865:175-92.

Tableau 1. Récapitulatif des volumes de données de séquençage ONT générés pour les onze échantillons positifs en virus influenza aviaire. La valeur *x* de N50 indique que 50% des bases générées lors du séquençage appartiennent à des séquences dont la taille est supérieure à *x*.

Référence	Type d'échantillon	Date prélèvement (AAAA-MM)	Département	Ct RT-qPCR (gène M)	Volume de données de séquençage (Mb)	N50 (pb)	HA yield (Mb)	N50 HA (pb)
LAB20323	Ecouvillon trachéal	2020-12	40	28,5	230,59	640	30,53	661
LAB20335	Ecouvillon trachéal	2020-12	40	24,7	139,52	891	6,05	636
LAB20338	Ecouvillon trachéal	2020-12	85	27,1	96,09	572	0,36	469
LAB20339	Chiffonnette	2020-12	79	20,4	129,52	882	9,10	641
LAB20347	Ecouvillon trachéal	2020-12	40	14	474,13	937	45,34	1 818
LAB20349	Ecouvillon trachéal	2020-121	40	20,4	2,34	896	0,17	656
LAB20352	Ecouvillon trachéal	2020-12	40	18,9	289,83	808	22,99	648
LAB20353	Pulpe de plume	2020-12	40	23,5	301,95	897	28,36	598
LAB21061	Chiffonnette	2021-01	65	25	28,62	443	1,17	681
LAB21064	Ecouvillon trachéal	2021-01	65	20	28,35	872	7,65	652
LAB21084	Ecouvillon trachéal	2021-02	32	22,8	366,39	888	32,68	673

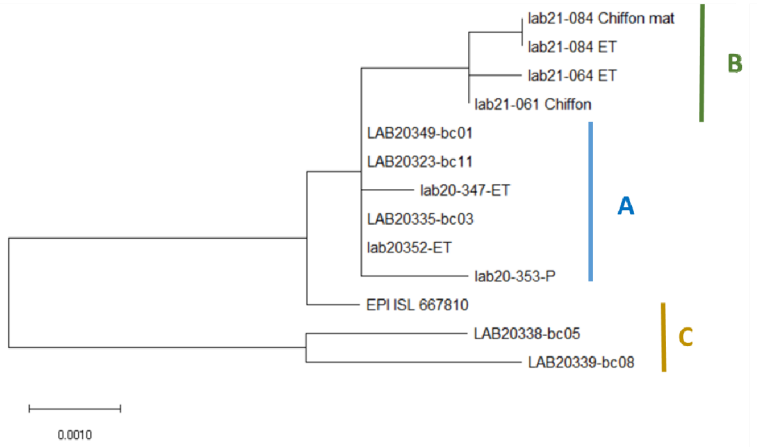


Figure 1. Analyse phylogénétique, par la méthode de Neighbor-Joining, des séquences du gène de l'hémagglutinine des souches de l'épizootie 2020-2021 séquencées sur Minion Mk1C. Les trois groupes phylogénétiques A, B et C regroupent différents génotypes ayant circulé dans le sud-ouest de la France de décembre 2020 à février 2021.

SESSION NUTRITION

SESSION NUTRITION

Communications orales

DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES CALIBRATIONS DE SPECTROSCOPIE DANS LE PROCHE INFRAROUGE POUR LA PREDICTION DE LA DIGESTIBILITE DES NUTRIMENTS CHEZ LE POULET DE CHAIR

Traineau Maxime[1], Pareux Maryanne[1], Danel Justine[1], Ammari Faten[2], Faure Marlène[2], Vilariño Maria[1]

[1]ARVALIS - Institut du végétal, 2 Pouline, 41100 Villerable, France

[2]ARVALIS - Institut du végétal, Route de Malesherbes, 91720 Boigneville, France

m.traineau@arvalis.fr

RÉSUMÉ

Depuis plusieurs années, ARVALIS - Institut du végétal développe des calibrations par Spectroscopie dans le Proche Infrarouge (SPIR) pour l'évaluation de la digestibilité des nutriments chez les volailles dont certaines sont déjà utilisées en routine. Ces calibrations permettent de prédire la composition chimique des fientes (amidon, azote et énergie), ce qui est un gain de temps important en évitant de passer systématiquement par des analyses chimiques. L'objectif de l'étude était d'évaluer les performances des nouvelles calibrations SPIR développées en 2020. Onze essais de digestibilités chez le poulet de chair (800 échantillons) et huit essais de digestibilités chez le coq (322 échantillons) ont été ajoutés à la base de calibration précédente, composée de 777 échantillons. La performance des nouvelles calibrations est estimée avec les coefficients de Pearson (R^2), la pente, le biais de la régression linéaire entre les valeurs mesurées et prédites et avec l'erreur standard de prédiction (SEP). Afin d'évaluer les résultats de ces calibrations de composition, des fientes provenant d'essais ne faisant pas partie de la base de données utilisée pour le développement sont étudiées. Les valeurs de digestibilité des nutriments sont calculées, soit à partir de la composition de fientes analysées par référence, soit issue des prédictions SPIR. Des essais de digestibilité menés sur des poulets de souches différentes et sur des animaux très jeunes ou des animaux adultes (coqs) permettent également d'évaluer ces calibrations avec des fientes très différentes. La digestibilité de tous les nutriments, calculée à partir de valeurs obtenues par SPIR sur les fientes, est fortement corrélée avec les valeurs issues des méthodes de référence ($p<0,001$) pour tous les essais. Les performances sont également très bonnes pour les résultats sur fientes de poulets à croissance lente mais aussi de très jeunes poulets de cinq jours d'âge. De plus, ce nouveau modèle permet de prédire la composition chimique des fientes de coqs avec une corrélation très forte avec les résultats mesurés ($R^2 > 0,90$) pour la digestibilité de l'énergie et des écarts très faibles pour l'énergie digestible (moins de 20 kcal/kg MS). En conclusion, la prédiction de la composition des fientes (énergie, amidon et azote) est très proche des valeurs de référence et permet également de calculer la digestibilité de ces nutriments chez des volailles d'origines très diversifiées (souche standard, souche à croissance lente, jeunes animaux, coqs).

ABSTRACT

Development of new Near-Infrared Reflectance Spectroscopy calibrations for prediction of nutriment digestibility in broiler chicken

For several years, ARVALIS developed Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) calibration to evaluate the nutrients digestibility in chicken and some of these calibrations are daily used. These calibrations allow to predict the chemical composition of diet and faeces (starch, nitrogen, energy) but also to directly predict nutrients digestibility without chemical analysis and the calculations usually used. The main goal of this study was to evaluate the new NIRS calibrations developed in 2020. Eleven digestibility trials in chickens (800 samples) and eight in roosters (323 samples) were added to the previous database already composed of 777 samples. The power of the new calibrations was estimated with the coefficient of determination (R^2), the slope of the linear regression between measured and predicted values, the standard error of prediction (SEP) and the bias. To evaluate the model of prediction of compositions, droppings from trials unused in the database were used to compare the calculated digestibly from analysed dropping with reference analysis or NIRS analyse. Digestibility trials on a different chicken strain but also on very young or adults' animals (roosters) allow to challenge the new model with various droppings. The digestibility of all nutrients, calculated from faecal composition with SPIR analysis, are highly correlated with data from reference method ($p<0.001$) for all trials. The performances of the 2020 calibration are also very good for droppings from organic chicken strain but also for five days old chickens. In addition, the new calibrations allow to estimate the rooster's faeces composition with high correlation between predicted and measured results ($R^2>0.90$) for energy digestibility but also very small differences for digestible energy (less than 20kcal / kg DM). As a conclusion, the predictions of droppings composition (energy, starch and nitrogen) are very close to the reference values and also make it possible to calculate the digestibility of these nutrients in very diverse fowl (standard chicken strain, slow growing strain, young animals, roosters).

INTRODUCTION

Aujourd'hui, l'estimation de la capacité des animaux à digérer les aliments et les matières premières qui les composent le plus précisément possible est un enjeu majeur en nutrition animale. Ces connaissances ont déjà permis d'optimiser de plus en plus la composition en matières premières des aliments distribués aux animaux. La méthode de référence pour acquérir ces données reste encore aujourd'hui un bilan digestif sur plusieurs jours consécutifs avec un suivi de la consommation (avec mise à jeun) et de l'excrétion des poulets ou des coqs (Bourdillon *et al*., a et b 1990). L'ajout d'un marqueur non digestible permet néanmoins de réaliser des bilans digestifs sans mise à jeun, ce qui ne pénalise plus la croissance des animaux. Or, ces différents bilans ne permettent pas de faire l'évaluation rapide de la digestibilité des aliments par les animaux car nécessitent des analyses chimiques des fientes et des aliments.

L'utilisation des méthodes par spectrométrie dans le proche infra-rouge (SPIR) permet une évaluation plus rapide et moins couteuse des valeurs chimiques ou nutritionnelles, mais cela nécessite une phase d'étalonnage qui lie le spectre IR aux résultats des analyses de laboratoire par méthodes de référence (composition chimique, valeur nutritionnelle...).

Une synthèse publiée récemment (Bastianelli *et al.* 2018) décrit les utilisations de la SPIR pour la caractérisation des ressources alimentaires sur plusieurs espèces.

Un projet de recherche multipartenarial (DIGSPIR 2010-2014) avait montré l'intérêt des méthodes SPIR pour estimer la composition chimique des fientes et alléger ainsi le coût analytique des essais de digestibilité chez le poulet. Il avait aussi démontré la faisabilité de prédire directement la digestibilité des aliments par les poulets à partir de la concaténation des spectres d'aliments et de fientes (Coulibaly *et al*., 2013 ; Vilariño *et al*., 2016).

Depuis, ARVALIS a continué à enrichir sa base de données (BDD) et à améliorer les calibrations, aujourd'hui utilisées en routine pour déterminer la composition chimique des fientes dans les essais de digestibilité chez le poulet de chair. La prédiction directe de digestibilité des nutriments est également suivie afin de continuer à développer les modèles de calibration prometteurs (Traineau *et al*., 2017). Ainsi, en 2020, de nouveaux modèles de prédiction de la composition chimique des fientes ont été développés, avec une plus large variabilité de la BDD sur poulets standard et en intégrant également des données issues de bilans digestifs chez les coqs.

Cet article présente d'abord une description (matériel et méthodes) des performances obtenues avec les modèles de prédiction par SPIR de la composition chimique de fientes (F/SPIR), ainsi que celles des prédictions directes de la digestibilité des nutriments. Ensuite, plusieurs essais, non intégrés dans le développement des modèles, sont utilisés pour valider les calibrations avec des données indépendantes, pour répondre aux questions suivantes :

- Est-ce que les valeurs de composition chimique des fientes prédites par SPIR (F/SPIR) et par méthodes de référence (F/REF), donnent des résultats équivalents dans le calcul des digestibilités ?
- Est-ce que les modèles F/SPIR, développés sur fientes de poulets standard de 21 à 25 jours d'âge, sont valides pour des fientes d'une souche à croissance lente ? de jeunes poulets ? des coqs ?

1. MATERIELS ET METHODES

La méthodologie utilisée dans le développement des nouveaux modèles, ainsi que celle permettant ensuite, d'évaluer leurs performances avec des données externes est décrite ci-dessous.

1.1. Paramètres SPIR et des modèles de calibration

Les spectres ont été réalisés avec l'appareil NIRSystem XDS (FOSS, USA). Les échantillons ont été scannés à des intervalles de 2 nm sur une plage de variation de longueurs d'onde allant de 400 à 2498 nm. Chaque spectre, correspondant à la moyenne de 32 scans, est représenté par l'absorbance (équivalent au logarithme inversé de la réflectance) en fonction de la longueur d'onde (en nm). Les données spectrales ont été traitées à l'aide du logiciel WinISI (Infrasoft International, USA).

Les étapes de développement sont les mêmes pour les modèles de prédiction de la composition chimique des fientes et de la digestibilité de nutriments des aliments. La première étape correspond aux prétraitements des spectres proche infra-rouge afin d'enlever le bruit et les variations des lignes de base mais également de limiter l'impact des facteurs environnementaux. Dans cette étude, différents prétraitements mathématiques ont été utilisés tels que la normalisation SNV, Detrend et MSC (Multiplicative Scatter Correction). Des dérivées premières et secondes avec différents niveaux de lissage ont également été testées. La BDD a été scindée en deux lots en utilisant l'algorithme Duplex : un lot de calibration pour développer le modèle et un lot de validation pour le tester.

Pour les modèles développés afin de prédire directement la digestibilité des nutriments ou la valeur énergétique des aliments, les spectres aliments et fientes ont été concaténés, comme dans les travaux précédents (Coulibaly *et al*., 2013) avec un prétraitement mathématique (dérivée seconde, normalisation, lissage et correction de la ligne de base) pour tous les spectres.

Les modèles ont été développés en utilisant la méthode de régression des moindres carrés partiels modifiés (MPLS). Le modèle optimal a été choisi en se basant sur les paramètres suivants : l'erreur de calibration (SEC), l'erreur de validation croisée (SECV), l'erreur de prédiction (SEP), le coefficient de détermination (R^2), la pente et le biais.

1.1.1. Modèles de prédiction de la composition chimique des fientes

Pour élargir la BDD initiale composée de 777 échantillons (BDD 2014), 11 essais de digestibilité chez le poulet de chair standard (800 échantillons) et huit essais de digestibilités coq (322 échantillons) ont été ajoutés pour le développement des nouvelles calibrations (2020). Les performances des modèles 2020 sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1. Performances des modèles de prédiction de la composition chimique des fientes de poulets standard et coqs (% MS ou kcal/kg MS)

	AmiEnz	NFT	NTotal	EB
Lot de calibration				
N	975	681	1126	1234
SEC	0,56	0,08	0,16	48
SECV	0,61	0,10	0,18	59
R²	0,99	0,95	0,99	0,97
Lot de validation				
N	487	342	563	617
SEP	0,76	0,10	0,19	60
R²	0,99	0,91	0,99	0,95

*N : Nombre d'échantillons ; SEC : Erreur de Calibration ; SECV : Erreur de Cross-Validation ; SEP : Erreur de Prédiction ; AmiEnz : Amidon enzymatique ; NFT : Azote fécal total ; NTotal : Azote Total avec NFT =1,29*N terpstra-0,02*Ntotal ; EB : Energie Brute*

Les modèles 2020 permettent de prédire les différentes composantes des fientes avec des erreurs de prédiction de 0,76 point pour l'amidon, de 0,10 point pour l'azote fécal, de 0,19 point pour l'azote total et de 60 kcal/kg MS pour l'énergie brute (EB).
Les valeurs prédites avec ces nouveaux modèles sont fortement corrélées aux valeurs de référence ($R^2 = 0,99$ pour l'amidon enzymatique, $R^2 = 0,91$ pour l'azote fécal, $R^2 = 0,99$ pour l'azote total et $R^2 = 0,95$ pour l'EB). Par méthode de référence les erreurs sont 0,79 points pour amidon enzymatique, 0,8 points pour NFT, 0,15 points pour N Total et 55 kcal/kg MS pour EB.

1.1.2. Modèles de prédiction de la digestibilité

Comme pour les modèles de composition des fientes, de nouveaux modèles ont été mis à jour en 2020. Néanmoins, seuls les spectres des essais sur poulets standard ont été pris en compte (spectres coqs écartés). Les performances de ces modèles sont présentées dans le tableau 2. Les modèles 2020 permettent de prédire les digestibilités avec des erreurs de prédiction de 0,96 point pour l'amidon, de 1,73 point pour l'azote et de 2,63 points pour l'EB. L'énergie métabolisable apparente à bilan azoté nul (EMAn) des aliments est prédite avec une erreur de 95 kcal/kg MS.
Ces valeurs prédites avec la SPIR sont fortement corrélées aux valeurs de référence ($R^2 = 0,95$ pour la digestibilité de l'amidon, $R^2 = 0,88$ pour la digestibilité de l'azote, $R^2 = 0,76$ pour la digestibilité de l'énergie et $R^2 = 0,83$ pour l'EMAn).

Tableau 2. Performances des modèles de prédiction de la digestibilité et de la valeur énergétique des aliments chez le poulet standard. (% MS ou kcal/kg MS

	CUDa Amidon	CUDa N	CUDa EB	EMAn
Lot de calibration				
N	1035	1049	1035	1033
SEC	0,69	1,28	2,1	77
SECV	0,85	0,146	2,43	91
R²	0,97	0,94	0,82	0,87
Lot de validation				
N	516	523	516	516
SEP	0,96	1,73	2,63	95
R²	0,95	0,88	0,76	0,83

N : Nombre d'échantillons ; SEC : Erreur de Calibration ; SECV : Erreur de Cross-Validation ; SEP : Erreur de Prédiction ; CUDa : Coefficient d'Utilisation Digestive apparente ; Amidon : Amidon enzymatique ; N : Azote ; EB : Energie Brute ; EMAn : Energie Métabolisable Apparente à bilan azoté nul.

1.2. Données externes pour la validation des modèles de prédictions.

Au total sept essais de digestibilité sur poulets et 14 essais sur coqs sont utilisés pour évaluer les performances des modèles de prédiction de la composition des fientes 2020. Aucun de ces essais ne faisait partie de la BDD des modèles. Ces essais se sont déroulés dans la même unité et dans les mêmes conditions d'expérimentation que les essais intégrés aux modèles. Ce même travail de validation, pour les modèles de prédiction directe de la digestibilité est en cours et sera publié ultérieurement. Ces nouvelles données viendront enrichir la BDD précédente qui a donné lieu aux modèles développés auparavant (Traineau *et al*., 2017), suivant le même principe de la concaténation des spectres d'aliments et de fientes.

1.2.1. Essais pour validation sur poulet standard 21-25 jours d'âge.

Cinq de ces essais (E1 à E5) concernent des animaux semblables à ceux de la population de calibration, soit, pour chaque essai, 72 poulets mâles de type standard (croissance rapide), mis en bilan individuel autour de J21 à J25. Dans ces essais, des régimes très différents sont évalués, composés de matières premières variées (tourteaux de soja, colza et tournesol ayant subi différents traitements) avec des niveaux différents de céréales (blé, orge et maïs), des régimes complets avec des additifs alimentaires et des régimes avec du blé de force. Ces essais, portant sur des thématiques très différentes, permettent donc de bien estimer les performances des nouvelles calibrations.

1.2.2. Essais de validation des effets souche et stade physiologique.

Il était intéressant de travailler sur des fientes différentes de celles utilisées pour le développement des calibrations. En effet, il est pertinent de savoir si les modèles développés fonctionnent également sur

des volailles d'une autre souche ou sur des volailles à des âges de maturité très différents (poussins de 5 à 20 jours et coqs adultes).
Un premier essai (E6) évaluait la digestibilité chez 72 poulets à croissance lente (JA 657) entre J22 et J25 nourris avec des aliments riches en tourteaux de colza, de tournesol ou en pois. Un second essai (E7) réalisé chez des ROSS PM3, avec des bilans digestifs à J5-J6, J11-J12 et J19-J20 a également évalué des aliments complets de type commercial.
Enfin, 14 essais coqs ont été mis en place depuis le développement des modèles 2020. Pour chacun de ces essais, les fientes de 18 coqs logés en cage individuelle étaient collectées pendant 3 jours, selon la méthode de référence (Bourdillon *et al*., a et b 1990). La composition chimique des fientes ainsi collectées a été déterminée par méthode de référence et par SPIR.

1.3. Analyses statistiques sur la validation avec des données externes

Pour évaluer la performance des modèles de prédiction de la composition des fientes avec des données externes (essais qui ne font pas partie de la base de calibration des modèles 2020), les valeurs de digestibilité des nutriments sont comparées, selon que les données de composition chimique des fientes servant aux calculs soient issues des méthodes de référence (F/REF), ou des prédictions du modèle 2020 (F/SPIR). Cette comparaison est faite avec deux types d'analyse statistique, des corrélations de Pearson et des ANOVA. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel de traitements statistiques XLSTAT 2021 2.2.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 3 présente les différentes comparaisons entre les coefficients d'utilisation digestive apparente (CUDa) calculés à partir de la composition chimique des fientes obtenue par méthodes de référence (F/REF), et ceux calculés à partir de la composition chimique prédite par SPIR (F/SPIR).

2.1 Prédictions sur fientes de poulet standard (essais E1 à E5).

Les valeurs de digestibilité de l'énergie (CUDa EB) obtenues à partir des valeurs de composition des fientes par référence (F/REF) ou par SPIR (F/SPIR) sont très bien corrélées ($R^2 > 0,84$). Un seul essai (E3) montre une différence statistique de -2 points en moyenne pour tous les régimes, entre les deux méthodes. Cette différence est probablement expliquée par la mauvaise prédiction de deux aliments composés d'un blé de force générant des spectres particuliers qui s'écartent du nuage de la base utilisée pour le développement du modèle 2020.
Les valeurs d'EMAn des aliments (non présentées dans le tableau) donnent les mêmes performances que celles des CUDa EB, avec des R^2 supérieurs à 0,86 pour tous les essais et un biais moyen entre F/REF et F/SPIR allant de 13 à 87 kcal/kg MS (la valeur la plus forte provenant de l'E3). Comme pour l'énergie, les corrélations pour les CUDa amidon sont très élevées ($R^2 > 0,86$). Les écarts entre les deux méthodes vont de -2 à +0,7 points, la valeur la plus forte correspondant à l'E3, mal prédit pour les mêmes raisons que pour l'énergie.
Pour les valeurs de CUDa N, les corrélations sont également élevées pour la plupart des essais ($R^2 > 0,95$), sauf pour E3 avec un R^2 de seulement 0,67.

Tableau 3. Comparaison entre les coefficients d'utilisation digestive apparente (CUDa) de l'énergie, de l'amidon et de l'azote pour chaque essai en fonction de la méthode d'obtention des données (F/REF ou F/SPIR)

	CUDa EB			CUDa amidon			CUD N		
Essai	**CP[a] (R^2)**	**ANOVA[b]**	**Biais**	**CP (R^2)**	**ANOVA**	**Biais**	**CP (R^2)**	**ANOVA**	**Biais**
E1	0,96	ns	0,47	0,98	ns	-1,10	0,97	ns	-0,41
E2	0,99	ns	-0,86	0,99	ns	-0,98	0,95	*	-2,43
E3	0,99	**	-2,11	0,99	*	-2,00	0,67	**	-3,84
E4	0,94	ns	0,36	0,98	ns	-0,77	0,99	*	2,31
E5	0,84	ns	1,30	0,86	ns	0,70	0,98	*	2,41
E6 (CL)	0,98	ns	-0,26	0,91	ns	0,28	0,97	ns	0,75
E7 (J5-J6)	0,94	ns	0,21	0,92	ns	-0,03	0,60	ns	0,12
E7 (J11-J12)	0,99	ns	0,00	0,91	ns	-0,04	0,93	*	-1,60
E7 (J19-J20)	0,97	ns	0,16	0,99	ns	-0,80	0,80	ns	-0,17

*[a] Corrélations de Pearson ; [b] ANOVA avec test a posteriori de Tukey ; ns : P > 0,05 ; * : P<0,05 ; ** : P<0,01 ; *** : P<0,001 ; [c] Ecart entre les moyennes selon la méthode d'obtention de données : F/REF : Composition de fientes par analyses de référence ; F/SPIR : Composition de fientes par Spectrométrie dans le Proche Infrarouge ; Ecart ; F/REF - F/SPIR.*

Cependant, à la différence des autres critères, les écarts à la référence sont statistiquement significatifs pour 4 essais sur 5, avec une plage de variation allant de -3,8 à +2,4 points. Pour ce paramètre, le modèle nécessitera un travail complémentaire afin d'optimiser les performances.

2.2. Prédictions sur fientes de poulets de souche à croissance lente (essai E6).

Concernant l'essai E6 pour lequel les fientes provenaient de poulets de souche à croissance lente, les résultats sont très satisfaisants pour tous les paramètres mesurés. En effet, pour les digestibilités de l'énergie, de l'amidon et de l'azote, les coefficients Pearson entre la méthode F/REF et F/SPIR sont respectivement 0,98, 0,91 et 0,97. De plus, les écarts sont faibles (-0,26, +0,24 et +0,75 respectivement) et non significatifs. Pour l'EMAn, l'écart moyen entre les deux méthodes n'est que de 3 kcal/kg MS avec un R^2 de 0,98. Ces résultats permettent de conclure, à ce stade et avec un seul essai, sur la validité des modèles F/SPIR sur de poulets à croissance lente, alors qu'ils ont été développés sur de souches à croissance rapide.

2.3. Prédictions sur fientes de poulets standards à différents âges (E7).

Pour les bilans digestifs à des âges plus précoces (J5-J6 et J11-J12) que les bilans habituellement réalisés autour de J21-J24, les résultats semblent très probants. En effet, pour le CUDa EB, pour les trois périodes de bilan, les corrélations varient entre 0,94 et 0,99 entre les méthodes F/REF et F/SPIR, ce qui est du même niveau que pour les essais E1 à E4. La différence maximale est de seulement 0,2 point pour le bilan J5-J6 et aucune différence significative n'est mise en évidence, quelle que soit la période. Pour l'EMAn, les corrélations varient de 0,91 à 0,98 et les écarts pour les trois bilans sont inférieurs à 10 kcal/kg MS. Les corrélations du CUDa amidon, pour les trois périodes ont un $R^2 >$ 0,91 et l'écart maximal observé entre les données issues de la référence et les valeurs prédites est de -0,8 point. Enfin pour le CUDa N, comme pour les essais précédents, les résultats sont un peu moins précis avec des R^2 assez variables selon les âges (0,60 à 0,93), le plus faible étant à J5-J6, cet écart est non significatif. Par ailleurs, le seul écart significatif est celui du bilan à J11-J12 (-1,6 point).

2.4. Prédictions sur fientes de coqs.

Pour les essais sur coq, seules les valeurs du CUDa énergie et d'EMAn ont été analysées afin de comparer, comme chez les poulets, les valeurs obtenues à partir de F/REF en comparaison des F/SPIR. Pour 13 essais sur 14, les corrélations pour l'EMAn et le CUDa EB ont un R^2 moyen de 0,96 avec des valeurs allant de 0,82 à 0,99. Les écarts de résultats entre la méthode d'analyse de fientes par référence et par SPIR varient de 5 à 21 kcal/kg MS. Ces très bons résultats montrent bien que pour les essais digestibilité chez le coq, la prédiction par SPIR de la composition des fientes, plus rapide et moins onéreuse, apporte les mêmes résultats que l'analyse par méthode de référence. Un seul essai donne de résultats peu précis, avec un R^2 de 0,38 et un écart de -156 kcal/kg MS (F/REF - F/SPIR) en moyenne pour deux régimes à haut niveau de gluten de blé (8 et 10 %). En effet, la base de calibration ne contient pas de données avec des niveaux si importants en gluten de blé. Ce type de matière première pourrait être intégré lors d'une actualisation des calibrations, mais le résultat est intéressant en soi du fait de la mise en évidence d'une caractéristique dans l'aliment qui modifie le spectre des fientes.

CONCLUSION

Les modèles 2020 de prédiction de la composition chimique de fientes par SPIR sur les critères énergie, amidon et azote, sont robustes et les valeurs en découlant peuvent être utilisées dans le calcul de la digestibilité de ces nutriments. Les modèles développés sont utilisables sur les fientes des souches à croissance lente mais également celles de coqs. De plus ces modèles donnent de très bons résultats sur les fientes de poulets à tous âges, même les très jeunes, pour lesquels les quantités excrétées sont faibles et les méthodes de référence parfois difficiles à mettre en œuvre. Il reste à valider les modèles de prédiction directe de la digestibilité avec des données indépendantes, ce qui sera une avancée importante dans l'utilisation de la SPIR dans l'évaluation de la qualité nutritionelle des aliments.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bastianelli D., Bonnal L., Barre P., Nabeneza S., Salgado P., Andueza D., 2018. INRA Prod. Anim., 31 (3), 237-254.

Bourdillon A. (a), Carré B., Conan L., Francesch M., Fuentes M., Huyghebaert G., Janssen W.M.M.A., Leclercq B., Lessire M., McNab J., Rigoni M., Wiseman J., 1990. Brit. Poult. Sci., 31, 567-576.

Bourdillon A. (b), Carré B., Conan L., Duperray J., Huyghebaert G., Leclercq B., Lessire M., McNab J., Wiseman J., 1990. Brit. Poult. Sci., 31, 557-565.

Coulibaly I., Métayer J.P., Chartrin P., Mahaut B., Bouvarel I., Hogrel P., Bastianelli D., 2013. 10èmes Jour Rech. Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 640-644.

Traineau, M., Métayer J.P., Mahaut B., Ammari F., Vilariño M., 2017. 21st Eur. Symp. Poultry Nutr.

Vilariño, M., Métayer J.P., Mahaut B., Bouvarel I., Lescoat P., Chartrin P., Fournis Y., Hogrel P., Bonnal L., Bastianelli D., 2016. Innovations Agronomiques 49, 163-177.

VERS UNE MEILLEURE PREDICTION DE LA DIGESTIBILITE DE PHOSPHORE CHEZ LE POULET DE CHAIR

Khaksar Vahid[1], Narcy Agnès[1], Jlali Maamer[2], Preynat Aurélie[2], Couture Catherine[3], and Létourneau-Montminy Marie-Pierre[3]

[1]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY

[2]ADISSEO FRANCE S.A.S., Center of Expertise and Research in Nutrition, F-03600 COMMENTRY

[3]DEPARTEMENT DES SCIENCES ANIMALES, Université Laval, Quebec City, G1V 0A6, QUEBEC, CANADA

marie-pierre.letourneau-montminy.1@ulaval.ca ; agnes.narcy@inrae.fr

RÉSUMÉ

Prédire l'utilisation digestive du phosphore (P) alimentaire en tenant compte de ses principaux facteurs de variation demeure crucial d'un point de vue environnemental et économique. À cet égard, une méta-analyse a été menée pour développer un modèle de prédiction du P digestible (Pdig) pour le poulet de chair en fonction du calcium (Ca), du P phytique (PP), du P non-phytique (PNP) et de la phytase microbienne (PhytM) ainsi que de leurs interactions. Une base de données exhaustive a été construite en s'appuyant sur des publications parues entre 2010 et 2021 et comprenait 292 et 333 traitements pour les âges de 1-21 et 22-42 jours, respectivement. Le Pdig répond de façon linéaire à la teneur de PP avec un effet de PhytM dépendant du niveau de PP (PP × PhytM, $P < 0,05$) chez les poulets de 1-21 jours. Chez les oiseaux plus âgés, PhytM influence le Pdig de façon quasiment similaire quel que soit le niveau de PP (Ca × PP × PhytM, $P < 0,05$). Aux deux âges, le Pdig est optimisé pour des niveaux de Ca plus faibles. Cet effet est d'autant plus marqué que le PP est élevé chez les poulets plus âgés. De plus, pour des niveaux de Ca élevés, l'effet de la PhytM diminue avec l'augmentation du PNP (Ca × PNP × PhytM, $P < 0,01$) aux deux âges. Le Pdig explique plus de 92% de la réponse des poulets intra-expérience en termes de performances de croissance et de minéralisation. Ce travail permet donc de disposer d'un outil de prédiction du Pdig en fonction des principaux facteurs de variation alimentaires et ouvre des perspectives intéressantes en termes de détermination des besoins en P chez le poulet de chair.

ABSTRACT
Towards a better prediction of phosphorus digestibility in broilers

Predicting the digestive use of dietary phosphorus (P) considering its main factors of variation remains crucial from an environmental and economic point of view. In this regard, a meta-analysis was conducted to develop a predictive model of digestible P (Pdig) for broilers as a function of calcium (Ca), phytic P (PP), non-phytic P (NPP) and microbial phytase (PhytM) and their interactions. A comprehensive database was built based on publications from 2010 to 2021 and included 292 and 333 treatments for ages 1-21 and 22-42 days, respectively. Pdig responds linearly to PP level with an effect of PhytM dependent on the PP level (PP × PhytM, $P < 0.05$) in 1-21-day-old chickens. In older birds, PhytM influences Pdig in an almost similar manner regardless of the PP level (Ca × PP × PhytM, $P < 0.05$). At both ages, Pdig is optimized for lower Ca levels. This effect is more pronounced for higher PP levels in older chickens. Furthermore, for higher Ca levels, the effect of PhytM decreases with increasing PNP (Ca × PNP × PhytM, $P < 0.01$) at both ages. Pdig explained more than 92% of the intra-experimental chicken response in terms of growth performance and mineralization. This work therefore provides a tool for predicting Pdig as a function of the main dietary variation factors and opens interesting perspectives in terms of determining P requirements in broiler chickens.

INTRODUCTION

L'utilisation digestive du phosphore (P) alimentaire est influencée par de nombreux facteurs tels que les proportions des différentes formes de P (P Phytique (PP) et P non-phytique (PNP)), la teneur de calcium (Ca) ainsi que l'incorporation de phytase microbienne (PhytM) (Selle et Ravindran, 2007 ; Li et al., 2021). Une bonne prédiction de leurs effets sur la digestibilité de P et leurs interactions éventuelles est nécessaire dans la perspective d'affiner les besoins des animaux. De nombreux travaux basés sur la mesure de la digestibilité iléale apparente de P ont été publiés ces 10 dernières années chez le poulet de chair. Ils permettent ainsi d'envisager de quantifier précisément l'impact des principaux facteurs de variation sur ce paramètre par l'outil de méta-analyse (Sauvant et al., 2008). L'objectif de cette étude était donc d'intégrer les informations quantitatives de la littérature sur la digestibilité iléale apparente de P et de développer un modèle de prédiction des impacts et des interactions des niveaux de Ca et P alimentaires, des formes de P et de l'ajout de phytase microbienne sur ce paramètre.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Collecte et codage des données

Les publications collectées traitaient de l'effet des niveaux de P et de Ca alimentaires et de la supplémentation en phytase microbienne sur la digestibilité iléale apparente de P chez le poulet de chair à croissance rapide élevé entre 1 et 42 jours (j) d'âge. La recherche bibliographique s'est concentrée sur la période 2010 à 2021. La base de données contenait des informations générales (nom de l'auteur, année de publication, type de revue scientifique) ainsi que des données qualitatives (ex : souche, âge, sexe) et quantitatives (ex : teneurs de PP, PNP, Ca, PhytM). Chaque observation représentait la moyenne d'un traitement. La base de données complète utilisée pour la méta-analyse comprenait 625 traitements provenant de 118 expériences et 74 publications. Les publications couvraient les périodes 1-21 et 22-42 j dans les proportions suivantes : 292 et 333 traitements, 55 et 63 expériences, 40 et 49 références, respectivement. Pour évaluer les réponses en termes de performance de croissance (GMQ, gain moyen quotidien ; Consommation moyenne journalière, CMJ ; Indice de consommation, IC) et de minéralisation du tibia, deux sous-bases ont été créés. Elles comprenaient respectivement 405 et 282 traitements provenant de 73 et 48 expériences issues de 48 et 30 publications pour les performances de croissance et la teneur en cendres du tibia. En fonction de la structure des données, d'autres sous-bases de données ont été considérées pour estimer des réponses plus ciblées.

1.2. Calculs et détermination des variables dépendantes et indépendantes

Pour assurer la cohérence globale de la base de données, le Ca total de l'alimentation (Cat), le Ca d'origine végétale, minérale et animale, le P total de l'alimentation (Pt), le PP, le PNP ainsi que le PNP d'origine végétale (PNPv), minérale (PNPm) et animale (PNPa) ont été recalculés en utilisant les données de composition nutritionnelle des ingrédients (Sauvant et al., 2004). Lorsqu'un ingrédient était analysé, ces valeurs étaient préférentiellement considérées. Pour les ingrédients manquants, les données des bases Feedipedia et Feedbase ont été utilisées. Ces recalculs ont été recoupés avec les valeurs mesurées de Cat et Pt présentées dans les publications. Lorsqu'elles étaient disponibles, les valeurs analysées ont été considérées pour développer les modèles. Dans 84% des traitements, les régimes incluaient du phosphate (62% bicalcique, 35% monocalcique et 3% monosodique) et 10% contenaient du PNP sous forme animale. Sur les 625 traitements, 273 ont été supplémentés en PhytM . Les variables indépendantes utilisées dans les modèles statistiques étaient : les concentrations en PP, PNP et Ca alimentaires (g/kg de régime) et l'activité phytasique (FTU/kg de régime). Elles ont été utilisées pour prédire la variable dépendante « P digestible » (P dig ; g/kg de régime).

1.3. Méta-design et analyses statistiques

Six bases de données ont été considérées : deux bases dans lesquelles le P digestible a été systématiquement étudié pour des poulets de 1-21 et 22-42 jours (mesures de digestibilité effectuées en moyenne à 21 et 30 jours respectivement), deux sous-bases limitées aux données pour lesquelles le P digestible, le GMQ, la CMJ et l'IC étaient rapportés pour chacune des phases et les deux dernières limitées aux études dans lesquelles le P digestible et la teneur en cendres du tibia étaient disponibles pour les différents âges. Une analyse du méta-design a été effectuée en examinant la relation entre les variables indépendantes prises deux par deux sous forme de graphique afin d'évaluer l'étendue de la variation dans chaque expérience, d'identifier les valeurs aberrantes et de vérifier les colinéarités entre les différentes variables indépendantes. Les données extraites ont été analysées à l'aide du modèle GLM (Minitab, version 20, State College, PA, USA) en considérant l'expérience comme un effet fixe pour assurer une prédiction correcte des coefficients du modèle et une description précise de l'erreur de prédiction (Sauvant et al., 2008). Des examens graphiques des réponses intra-expérimentales de chaque variable dépendante en fonction de la covariable principale ont ensuite été effectués pour les sous-bases de données du P digestible, des performances de croissance et de la teneur en cendres du tibia. Sur la base des examens

graphiques des réponses intra-expérimentales au PNP, les modèles quadratiques ont été ajustés comme suit :
$Yij = \alpha + \alpha i + b1\ PNPij + b2\ [PNPij]2 + eij$
Où, Yij est la valeur de la variable dépendante Y dans l'expérience *i* avec le niveau *j* de PNP, α est l'intercept global ; αi est l'effet de l'expérience *i* sur l'intercept α avec la condition que la somme de chaque αi soit égale à 0 ; *b1* et *b2* sont les coefficients linéaires et quadratiques de la réponse globale au PNP alimentaire, respectivement ; et *eij* est l'erreur résiduelle. Les paramètres significatifs ($P < 0,05$) et en tendance ($P < 0,10$) ont été inclus dans les modèles finaux (Tableau 1).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Prédiction du phosphore digestible en fonction de la teneur en phosphore phytique, calcium et phytase microbienne

Le phosphore digestible répond de façon linéaire à la teneur de PP (Figure 1). Chez les oiseaux de 1 à 21 j d'âge, la réponse est améliorée avec l'ajout de PhytM, l'amplitude de l'effet étant plus important à mesure que le niveau de PP, son substrat, augmente (PP x PhytM, P=0,01 ; Figure 1). Chez les oiseaux plus âgés, bien que l'interaction soit significative, la PhytM a un effet quasiment identique sur le Pdig quel que soit le niveau de PP (Ca x PP x PhytM, P=0,02). A tous les âges, le P digestible est pénalisé par des apports élevés de Ca. Chez les oiseaux plus âgés, cet effet est plus important à mesure que le niveau de PP augmente.
Des apports modérés à faibles de Ca permettent de prévenir la formation de complexes Ca-phytates dans l'intestin améliorant ainsi l'absorption de P (Heaney, 2004). Ils favorisent également l'activité d'enzymes intestinales impliquées dans la dégradation du PP. McGuaig et al. (1972) ont par exemple montré que la diminution du niveau de Ca de 15 à 6 g/kg augmentait l'activité de la phosphatase alcaline intestinale de 52 % et l'activité de la phytase intestinale de 75 %, car le Ca entrerait en compétition au niveau des sites actifs de ces enzymes. Des résultats similaires ont été rapportés par Applegate et al. (2003) qui ont constaté que le Ca alimentaire à des niveaux couramment utilisés dans les régimes pour poulets de chair (9 g/kg) entraînait une réduction de l'activité phytasique intestinale et de l'hydrolyse apparente du PP iléal par rapport à un niveau plus faible de Ca (4 g/kg). Le Ca influence ainsi l'activité des phosphatases et phytases endogènes.

2.2. Prédiction du phosphore digestible en fonction de la teneur en P non-phytique, calcium et phytase microbienne

Aux deux âges, le Pdig répond de façon linéaire à la teneur de PNP (Ca x PNP x PhytM, P<0,01 ; Figure 2) et est optimisé en présence de PhytM et pour des teneurs en Ca plus faibles.
De plus, dans un régime où la teneur en Ca est élevée, la réponse des poulets à la PhytM s'estompe à mesure que le PNP augmente. Par exemple, dans un régime contenant 10 g de Ca/kg, la supplémentation en PhytM (500 FTU/kg) améliore le Pdig à hauteur de 0,54 g/kg pour un faible niveau de PNP (1 g/kg), alors que cet effet est réduit à 0,23 g/kg pour un niveau plus élevé de PNP (5 g/kg) chez les jeunes oiseaux. La même tendance est observée chez les poulets plus âgés : 0,53 contre 0,26 g/kg. Dans ce cas, la déficience en P, creusée par les apports élevés de Ca, stimule la capacité d'absorption du P par l'intestin (Rousseau et al., 2016). Un faible apport en PNP pourrait également induire une augmentation de l'activité des phosphatases alcalines (Liu et al., 2017).
Chez les oiseaux plus âgés, la réponse à la PhytM à des niveaux de PNP plus élevés augmente avec des apports de Ca plus faibles. Cette situation étant propice à une déficience calcique, la capacité d'absorption de P est probablement régulée à la hausse expliquant cet effet positif.

2.3. Réponses des poulets au phosphore digestible

Le Pdig de l'aliment explique entre 92 et 98% de la réponse des poulets intra-expérience en termes de gain de poids et de teneur en cendres du tibia (Figure 3) i.e. lorsque seuls les critères « phosphore » sont pris en compte et à partir des données issues des essais choisis pour cette base. Les relations sont majoritairement de type linéaire, excepté pour la teneur en cendres des poulets de 1-21 j qui est légèrement quadratique. La linéarité des réponses montre que le P était limitant dans les expériences de la base de données puisqu'on s'attend à l'atteinte d'un plateau (Létourneau Montminy et al., 2010). En estimant de façon précise le Pdig de l'aliment à partir des analyses chimiques des différentes teneurs de P, du Ca et de la PhytM, il sera possible de couvrir au mieux les besoins des animaux.

CONCLUSION

Dans les conditions de la base de données, cette méta-analyse permet de quantifier les effets des principaux facteurs de variation du P digestible. Chez les jeunes oiseaux, l'effet positif de la phytase microbienne sur le Pdig est plus important pour les niveaux les plus élevés de PP. L'augmentation des apports de Ca pénalise le Pdig à tous les âges. Cet effet est d'autant plus marqué à haut PP pour les oiseaux plus âgés. De plus, l'effet positif de la PhytM sur le Pdig s'amenuise à mesure que le PNP augmente, et ce, principalement à haut Ca. Ce travail permet donc de disposer d'un outil de prédiction du Pdig en fonction des principaux facteurs de variation alimentaires et ouvre des perspectives intéressantes en termes de détermination des besoins en P chez le poulet de chair.

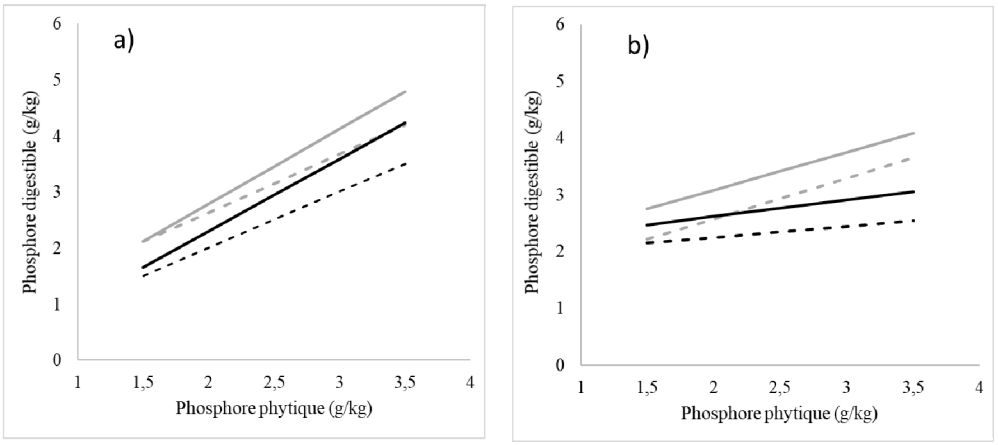
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Applegate, T.J., Joern, B.C., Nussbaum-Wagler, D.L., Angel, R., 2003. Poult.Sci., (82), 1024-1029.
Heaney, R.P., Nordin, B.E.C., 2002. J.Am.Coll.Nutr. 21, 239-244.
Letourneau-Montminy, M.P., Narcy, A., Lescoat, P., Bernier, J.F., Magnin, M., Pomar, C., Nys, Y., Sauvant, D., Jondreville, C., 2010. Animal 4, 1844-1853.
Li, W., Angel, R., Plumstead, P.W., Entingx, H., 2021. Poult.Sci., 100, 900-909.
Liu, S.B., Liao, X.D., Lu, L., Li, S.F., Wang, L., Zhang, L.Y., Luo, X.G., 2017. Poult.Sci., 96, 151-159.
McGuaig, L.W., Davies, M.I., Motzok, I., 1972. Poult.Sci., 51, 526-530.
Rousseau, X., Valable, A.S., Letourneau-Montminy, M.P., Meme, N., Godet, E., Magnin, M., Nys, Y., Duclos, M.J. Narcy, A., 2016. Poult.Sci., 95, 2849-2860.
Sauvant, D., Perez, J.M., Tran, G., 2004. In :Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux délevage: porcs, volailles, bovines, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. (INRA edit.), Paris, France, pp301.
Sauvant, D. Schmidely, P., Daudin, J.J., St-Pierre, N., 2008. Animal 2, 1203-1214.
Selle, P.H. et Ravindran, V., 2007. Anim.Feed Sci.Technol. (135), 1-41.

Tableau 1. Prédiction du phosphore digestible de l'aliment (g/kg) en fonction de la teneur en calcium (g/kg), phosphore phytique (g/kg), phosphore non-phytique (g/kg) et phytase microbienne chez le poulet en croissance et finition.

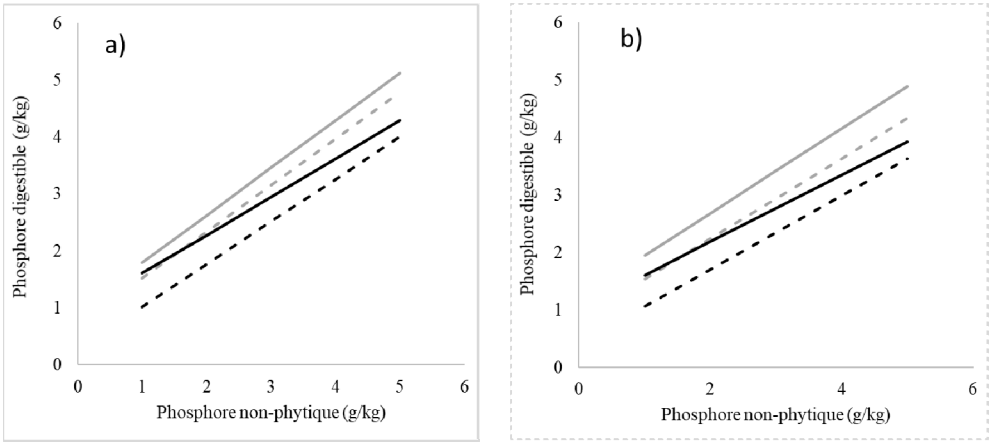
	P digestible					
	1-21 jours			22-42 jours		
Paramètres	Coefficient	s.e.	P-value	Coefficient	s.e.	P-value
Intercepte	-0,29	1,690	0,866	-1,142	0,891	0,201
Ca	-0,376	0,159	0,019	-0,0849	0,0920	0,357
PP	1,101	0,724	0,13	1,508	0,401	0,000
PNP	0,917	0,162	0,000	0,7787	0,0974	0,000
PhytM	-2,47	1,020	0,017	1,568	0,779	0,045
Ca × Ca	0,0182	0,00672	0,007	0,01916	0,00399	0,000
PhytM × PhytM	0,447	0,338	0,188	-0,2661	0,0378	0,000
Ca × PP	-0,0105	0,0608	0,863	-0,1314	0,0403	0,001
Ca × PNP	-0,0168	0,0147	0,257	-0,01347	0,00990	0,175
Ca × PhytM	0,2287	0,0708	0,001	-0,0697	0,0818	0,395
PP × PhytM	0,707	0,277	0,011	-0,563	0,329	0,088
PNP × PhytM	0,279	0,150	0,064	0,379	0,136	0,006
Ca × PP × PhytM				0,0761	0,0324	0,02
Ca × PNP × PhytM	-0,0471	0,0165	0,005	-0,0511	0,0142	0,000
Ca × PhytM× PhytM	-0,0382	0,0174	0,029			
PP × PhytM× PhytM	-0,224	0,121	0,065			
PNP × PhytM× PhytM	0,0767	0,0456	0,094			
Nb Expériences		55			63	
Nb Traitements		292			333	
R^2 (%)		95,20			93,07	
RMSE		0,341			0,236	

Figure 1. Réponse du phosphore digestible (Pdig) aux concentrations alimentaires de phosphore phytique (PP) en fonction de la phytase microbienne et du calcium (Ca) chez les poulets de 1-21 (a) et 22-42 jours (b)*



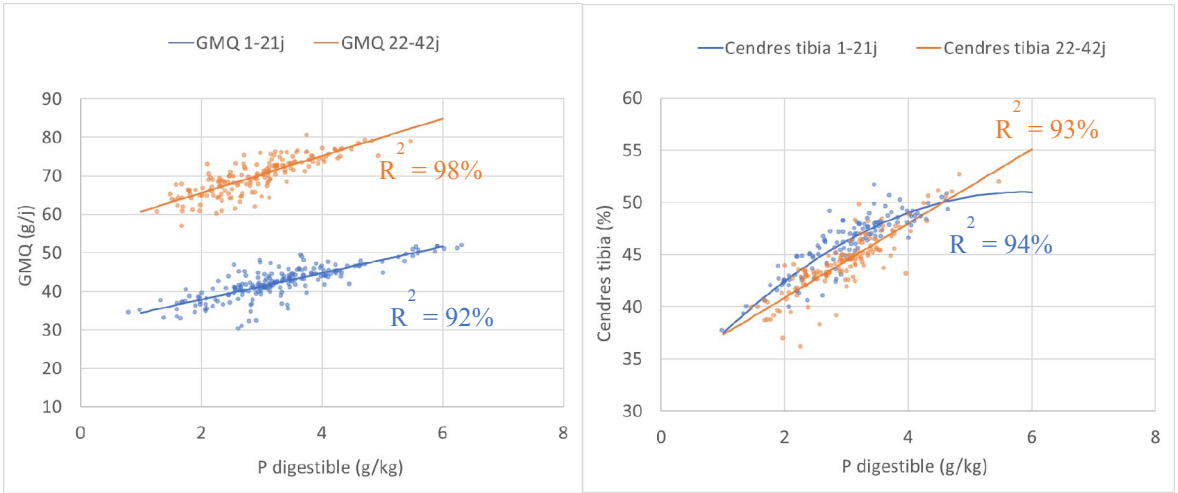
*Les lignes noires et grises représentent des régimes contenant respectivement 10 et 6 g de Ca/kg. Les lignes pleines et pointillées représentent respectivement 500 et 0 FTU de phytase microbienne/kg (PNP=3 g/kg).

Figure 2. Réponse du phosphore digestible (Pdig) aux concentrations alimentaires de P non-phytique (PNP) en fonction de la phytase microbienne et du calcium (Ca) chez les poulets de 1-21 (a) et 22-42 jours (b)*



*Les lignes noires et grises représentent des régimes contenant respectivement 10 et 6 g de Ca/kg. Les lignes pleines et pointillées représentent respectivement 500 et 0 FTU de phytase microbienne/kg (PP=2,5 g/kg).

Figure 3. Prédiction ajustée du gain moyen quotidien (GMQ) et des cendres tibiales (%) en fonction du phosphore digestible (g/kg)*



*GMQ 0-21=3,44×Pdig+31 (P<0,0001) ; GMQ 22-42=4,83×Pdig+56 (P<0,0001); cendres tibiales 0-21= 31,3+6,7×Pdig (P<0,0001)-0,57×Pdig^2 (P<0,022) ; cendres tibiales 22-42= 33,7+3,56×Pdig (P<0,0001).

VALIDATION EXPERIMENTALE D'UNE STRATEGIE D'ALIMENTATION DE PRECISION CHEZ LES POULETS DE CHAIR POUR REDUIRE LE COUT ALIMENTAIRE ET L'EXCRETION DES NUTRIMENTS

Pampouille Eva[1], Guyot Yann[1], Dusart Léonie[1], Souchet Christophe[1], Bernard Jérémy[2], Méda Bertrand[3]

[1]ITAVI – L'Orfrasière – 37380 NOUZILLY,
[2]INRAE – PEAT – 37380 NOUZILLY,
[3]INRAE – Université de Tours – BOA – 37380 NOUZILLY

pampouille@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Chez le poulet de chair, l'alimentation de précision pourrait être une solution alternative à la stratégie classique d'alimentation par phase pour réduire le coût alimentaire et les rejets (azote, phosphore) sans compromettre les performances des animaux. Cette stratégie consiste à ajuster quotidiennement la composition de la ration pour répondre aux besoins moyens du lot. Un essai a ainsi été mené pour démontrer le potentiel d'une telle stratégie, en utilisant des modèles mathématiques précédemment développés et permettant de prédire les besoins nutritionnels journaliers des animaux en fonction de leurs performances de croissance réelles. 912 poulets Ross 308 ont été répartis de manière aléatoire dans 24 parquets à J10. Trois stratégies alimentaires ont été testées jusqu'à J31 : un programme nutritionnel classique à deux aliments : croissance-finition (Ctrl), une stratégie multiphase journalière (MPJ) composée d'un mélange de deux pré-aliments changeant quotidiennement et défini avant l'essai, et une stratégie d'alimentation de précision (AP) composée d'un mélange de deux pré-aliments ajusté quotidiennement à partir des besoins calculés selon les performances de croissance réelles. Huit animaux par parquet étaient pesés individuellement chaque jour pour évaluer le poids vif (PV) moyen du lot pour chaque stratégie. En utilisant le PV moyen du lot AP, le gain de poids le plus probable et les besoins nutritionnels étaient ensuite estimés afin de préparer le mélange optimal à distribuer à J+1. Aucune différence significative n'a été observée sur le PV ou la consommation d'aliment, mais l'indice de consommation sur la période J10-J31 a augmenté dans les stratégies MPJ et AP par rapport à la stratégie C (+3,3 et +2,2%, respectivement). Malgré cette augmentation, les stratégies MPJ et AP ont permis d'améliorer les performances économiques et environnementales. Ainsi, une réduction significative du coût alimentaire (-7 et -8%, respectivement) et du phosphore excrété (-25 et -13%, respectivement) a été observée dans ces stratégies. Ces résultats prometteurs doivent maintenant être confirmés en conditions commerciales.

ABSTRACT

Experimental validation of a precision feeding strategy to reduce feeding cost and nutrient excretion in broiler chickens

In broiler chickens, precision feeding could be an alternative solution to the classical phase-feeding strategy to reduce feed cost and excretion (nitrogen, phosphorus) without impairing animal performance. This strategy consists in adjusting the diet composition on a daily basis to meet the average requirement needs of the flock. A trial was conducted to demonstrate the potential of such a strategy, using previously developed mathematical models to predict the daily nutritional requirements of the animals based on their actual growth performance. Nine hundred and twelve Ross 308 chickens were randomly allocated to 24 pens at D10. Three feeding strategies were tested until D31: a conventional two-phase program (Ctrl; growing-finishing), a daily multiphase program (MPJ) consisting in the daily blend of two pre-feeds defined prior to the trial, and a precision feeding program (AP) consisting in the daily blend two pre-feeds with a daily adjustment to account for daily requirements estimated according to actual growth performance. Eight animals per pen were weighed individually each day to estimate the average body weight (BW) in each strategy. Using the average BW of the AP flock, the "most-probable" BW gain and associated daily requirements were then estimated to compose the optimal blend to be distributed on D+1. No significant difference was observed on BW or feed intake, but feed conversion ratio over the D10-D31 period was increased with MPJ and AP compared to Ctrl (+3.3 and +2.2%, respectively). Despite this increase, the MPJ and AP strategies improved the economic and environmental performance. A significant decrease in feeding cost (-7 and -8%, respectively) and in phosphorus excretion (-25 and -13%, respectively) was observed with these strategies. These promising results must now be confirmed in commercial conditions.

INTRODUCTION

En production de poulet de chair, l'alimentation des animaux représente environ les deux tiers du coût de production (Moss *et al.*, 2021). En pratique, les poulets de chair reçoivent successivement plusieurs aliments au cours de l'élevage (i.e. « phases »). Chaque aliment est généralement distribué pendant une dizaine de jours durant lesquels il doit couvrir les besoins des animaux. Cependant, la valeur nutritionnelle de chaque « phase » est constante et définie à l'avance alors que les besoins des animaux évoluent quotidiennement. Ainsi, des situations où les apports de nutriments (azote, phosphore) dépassent les besoins sont fréquentes, et conduisent à une augmentation des rejets et du coût alimentaire (Pomar *et al.*, 2019 ; Moss *et al.*, 2021).

Dans ce contexte, l'alimentation de précision propose d'adapter quotidiennement les apports nutritionnels aux besoins des animaux en tenant compte des performances réelles des animaux pour minimiser les écarts entre apports et besoins. En pratique sur le terrain, une telle approche peut passer par l'utilisation de deux pré-aliments de compositions nutritionnelles contrastées, mélangés quotidiennement en proportion variable pour reformer une ration complète dont la composition satisfera les besoins quotidiens du lot et permettra de réduire le coût alimentaire et les rejets (Dusart *et al.*, 2019 ; Moss *et al.*, 2020).

Une telle approche nécessite au préalable le développement d'outils mathématiques (modèles) pour prédire i) les performances à venir des animaux sur la base des données collectées en élevage (ex. pesons automatiques) et ii) les besoins des animaux en fonction d'un niveau de performance donné. Ainsi, pour le poulet de chair, les modèles proposés par Dusart *et al.* (2019) et Méda *et al.* (2019) permettent de i) formuler simultanément des pré-aliments destinés à être mélangés pour recomposer une ration « complète » et ii) d'estimer les besoins journaliers en énergie métabolisable, lysine digestible et phosphore disponible en fonction du poids des animaux et de leur gain de poids attendu.

L'objectif de cette étude était donc de tester expérimentalement une telle approche « d'alimentation de précision » chez des poulets à croissance rapide, en utilisant les modèles décrits précédemment et de comparer cette approche à une stratégie « biphase » classique et à une stratégie « multiphase » journalière.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et design expérimental

L'essai a été mené dans l'unité expérimentale INRAE PEAT (DOI : 10.15454/1.5572326250887292E12). Il incluait 912 poulets de chair ROSS 308 dont 456 mâles et 456 femelles élevés de J0 à J31. De J0 à J9, les animaux ont été élevés en sexe séparé dans 4 parquets de 9 m² (2 parquets/sexe) et ont reçu le même aliment Démarrage. A J10, les animaux ont été répartis aléatoirement dans 24 parquets de 3 m² (8 parquets / stratégie ; 38 poulets / parquet ; 19 femelles et 19 mâles / parquet).

Trois stratégies alimentaires ont alors été testées jusqu'à l'abattage des animaux à J31 : une stratégie « Contrôle » (Ctrl) basée sur deux aliments Croissance et Finition, une stratégie multiphase journalière (MPJ) composée d'un mélange de deux « pré-aliments » en proportions variables changeant chaque jour et fixé avant l'essai, et une stratégie d'alimentation de précision (AP) composée d'un mélange de deux « pré-aliments » dont la composition était déterminé quotidiennement en fonction des performances de croissance réelles du lot AP.

1.2. Aliments expérimentaux

Les aliments Démarrage (J0-J9), Croissance (J10-J21) et Finition (J22-J31) ont été formulés au moindre coût en considérant les niveaux nutritionnels recommandés par le guide sélectionneur Ross 308 (Tableau 1).

Pour les pré-aliments A, B et C des stratégies MPJ et AP, la méthode de formulation bi-linéaire décrite par Dusart *et al.* (2019) a été utilisée. Pour cela, les besoins journaliers des animaux en énergie métabolisable (EM), lysine digestible (Lys_{dig}) et phosphore disponible (P_{dispo}) ont été calculés à l'aide du modèle décrit par Méda *et al.* (2019) en utilisant les données de croissance du guide sélectionneur Ross 308. Puis à l'aide des niveaux d'ingestion de ce même guide, les valeurs nutritionnelles journalières optimales du mélange ont été calculées et utilisées comme contraintes de formulation. De plus, les contraintes matières premières ont été appliquées soit au niveau des préaliments (ex. premix) soit au niveau du mélange (ex. blé). Enfin, pour être cohérent avec l'âge à la transition entre les aliments Croissance et Finition dans la stratégie Ctrl, le passage d'un mélange A/B à un mélange B/C a été imposé à J22. Les sorties de l'algorithme de formulation étaient alors la composition et les valeurs nutritionnelles des pré-aliments A, B et C (Tableau 1), ainsi que la composition journalière du mélange qui a servi de plan d'alimentation pour la stratégie MPJ (Figure 1).

1.3. Performances, composition corporelle et rejets

A la répartition à J10, 8 animaux « sentinelles » par parquet (4 mâles et 4 femelles) ont été choisis aléatoirement et identifiés (marque de couleur). Ces 192 animaux ont ensuite été pesés individuellement tous les jours entre J10 et J31. De même, la consommation d'aliment par parquet a été relevée quotidiennement durant tout l'essai. En plus de ce suivi, le poids vif (PV) individuel de l'ensemble des animaux a été mesuré aux transitions alimentaires (J10, J22) et à l'abattage (J31).

Enfin, à J10 et J31, des animaux ont été sacrifiés pour déterminer leur teneur en azote et en phosphore (10 animaux à J10 : 5 mâles + 5 femelles ; 36 animaux à J31 : 6 mâles + 6 femelles / stratégie). A partir de ces données de composition corporelle et des données de

consommation d'aliment, les rejets d'azote et de phosphore ont ensuite pu être calculés par différence entre l'ingéré et la rétention corporelle.

1.4. Préparation des mélanges MPJ et AP pour J+1

Chaque jour, à l'aide des données journalières de poids des animaux sentinelles AP, le PV à J+2 et le gain de PV entre J+1 et J+2 étaient prédits. Ces prédictions étaient ensuite utilisées pour estimer les besoins à J+1 des animaux à l'aide du modèle de Méda *et al.* (2019), puis déterminer la composition optimale du mélange à distribuer à J+1. Ce mélange, ainsi que celui du lot MPJ (plan d'alimentation prédéfini), étaient ensuite préparés et stockés avant leur distribution le lendemain matin, après mesure du PV des animaux sentinelles et de la consommation.

1.5. Analyses statistiques

L'effet de la stratégie alimentaire a été analysée par Analyse de Variance (ANOVA) à l'aide du logiciel R. Lorsque l'effet était significatif, un test de comparaison de moyennes *post-hoc* a été réalisé. L'unité statistique était l'animal pour les données de poids et de composition corporelle, et le parquet pour les autres données présentées dans cette étude.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Valeur nutritionnelle des mélanges

La prise en compte au jour le jour des performances de croissance du lot AP a conduit à des modifications de la composition du mélange quotidiennement distribué aux animaux par rapport au lot MPJ (Figure 1). Ainsi, par rapport au mélange MPJ, davantage de pré-aliments A et B ont été incorporés dans le mélange AP respectivement durant sur la phase *Croissance* (J10-J21) et *Finition* (J22-J31). En conséquence, les teneurs en protéines brutes (PB), Lys_{dig} et P_{dispo} du mélange AP étaient plus élevées que dans le mélange MPJ, en particulier sur les derniers jours de l'essai (+4 à 8% ; Figure 2a et b). A l'inverse, les teneurs en EM des mélanges MPJ et AP étaient très proches (moins de 20 kcal/kg d'écart en valeur absolue ; Figure 2a). Toutefois, l'ajustement quotidien de la composition des rations MPJ et AP a permis de considérablement réduire les teneurs en Lys_{dig} et P_{dispo} dans ces deux stratégies, en comparaison des teneurs des aliments de la stratégie Ctrl (de -12 à -17% ; Figure 2b). L'écart entre les teneurs des mélanges MPJ et AP (en particulier pour la Lys_{dig}) pourrait s'expliquer par les différences de besoins estimés par notre modèle nutritionnel. En effet, hormis sur les premiers jours de la période J10-J31, le GPV (gain de poids vif) théorique (i.e. prédit à partir des données de poids mesurées) des animaux du lot AP était de 5 à 16% supérieur au GPV considéré dans la stratégie MPJ (Figure 2c). Ceci a donc conduit à des besoins en Lys_{dig} supérieurs, et à une augmentation de la teneur en ce nutriment supérieur dans le mélange AP par rapport au mélange MPJ (Figure 2b). Des améliorations sur les modèles de prédiction de la performance à venir et/ou des besoins nutritionnels sont donc à envisager.

2.1. Croissance et ingestion

Aucune différence significative entre les stratégies n'a été observée sur le PV à J31 ou sur le GPV et la consommation cumulée d'aliment entre J10 et J31 (Tableau 2). En revanche, l'indice de consommation (IC) sur cette même période a respectivement augmenté de 3,3 et 2,2% dans les stratégies MPJ et AP par rapport à la stratégie Ctrl. Toutefois, l'IC de la stratégie AP était également significativement inférieur à celui de la stratégie MPJ (Tableau 2).
Ces différences d'efficience alimentaire peuvent s'expliquer par une tendance à une consommation supérieure durant la phase J10-21 pour les stratégies MPJ et AP ($P = 0,08$), se traduisant par l'augmentation significative de l'IC sur cette période (+3,7 et +3,0% respectivement pour les stratégies MPJ et AP ; données non présentées).
Sur l'ensemble de la période expérimentale (J10-J31), aucune différence statistique n'a été observée entre stratégies pour les ingérés cumulés d'EM et PB (données non présentées), en lien avec de faibles différences d'ingérés journaliers entre stratégies (-1 à -4% en moyenne pour les lots MPJ et AP par rapport au lot C ; données non présentées). A l'inverse, dans ces stratégies, les ingérés journaliers de Lys_{dig} et P_{dispo} étaient plus faibles, comparativement à la stratégie Ctrl (données non présentées). De plus, les ingérés cumulés de Lys_{dig} et P_{dispo} étaient significativement réduits d'environ 5 et 4% dans les stratégies MPJ et AP respectivement ($P < 0,01$; données non présentées). Ceci peut être expliqué par la forte réduction des teneurs en Lys_{dig} et P_{dispo} des mélanges distribués aux lots MPJ et AP (jusqu'à -17% pour la Lys_{dig} du mélange MPJ ; Figure 2b), en particulier sur la seconde moitié des phases croissance et finition (Figure 2b).

2.3. Coût alimentaire et rejets

Bien qu'associées à une augmentation significative de l'IC de 0,03 à 0,04 points, les stratégies MPJ et AP ont permis d'améliorer les performances économiques et environnementales par rapport à l'alimentation biphase « classique » de la stratégie Ctrl (Tableau 2). En effet, une réduction significative du coût alimentaire par kg de gain de PV a été observée dans ces stratégies comparativement à la stratégie Ctrl (respectivement -6,8 et -7,9%,) en raison du prix plus faible des pré-aliments A, B et C (Tableau 1), et donc des mélanges distribués (MPJ : 273-309€ ; AP : 284-304€ ; données non présentées). La réduction du coût alimentaire observée pour la stratégie AP est comparable à celle calculée par Moss *et al.* (2020) de l'ordre de 6% chez des poulets nourris avec une stratégie comparable (ajustement du mélange tous les deux jours en fonction du PV). Il faut cependant noter que ce coût alimentaire ne tient pas compte du coût

des équipements requis pour préparer et distribuer un mélange d'aliments en élevage commercial.
Les stratégies MPJ et AP ont également permis une réduction significative des rejets de phosphore d'environ 25 et 13% en comparaison avec la stratégie Ctrl. En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les différentes stratégies pour l'excrétion d'azote. Ce résultat est surprenant car un des objectifs des stratégies MPJ et AP étaient de réduire les rejets en adaptant les apports aux besoins des animaux. Il peut néanmoins être expliqué par la dégradation de l'indice de consommation dans ces stratégies (*i.e.* ingéré protéique supérieur) ainsi que par des teneurs en protéines corporelles inférieures de 0,5 et 0,4 points respectivement dans les stratégies MPJ et AP (non significatif ; données non présentées).

CONCLUSION

Dans nos conditions expérimentales, la distribution d'un mélange dont la composition varie quotidiennement présente des avantages par rapport à une stratégie d'alimentation par phase. Ainsi, en comparaison d'une stratégie « classique » par phase, la stratégie d'alimentation de précision testée dans cette étude a amélioré les performances économiques et environnementales, malgré une légère dégradation de l'indice de consommation.
En outre, en conditions commerciales, la prise en compte des performances réelles du lot pourrait s'avérer un réel avantage par rapport à un plan d'alimentation prédéfini, comme par exemple dans le cas d'événements « exceptionnels » (ex. coup de chaleur, problème sanitaire). Pour cela, les modèles utilisés devront être raffinés pour intégrer de nouvelles lois de réponses et règles de pilotage.
Ces résultats prometteurs doivent maintenant être confirmés en conditions commerciales, en considérant également la qualité des produits, le bien-être des animaux ainsi que le coût d'investissement lié aux équipements requis pour appliquer une telle stratégie.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre de l'UMT BIRD avec le soutien financier du programme européen pour la recherche et l'innovation H2020 (projet Feed-A-Gene n°633531 ; 2015-2020). Les auteurs remercient le personnel de l'unité expérimentale INRAE PEAT pour le suivi de l'essai.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dusart L., Rhoulam Y., Méda B., 2019. JRA-JRPFG, (13), 298-302.
Méda B., Talineau M., Chéret C., Narcy A., Dusart L., 2019. JRA-JRFG, (13), 8-12.
Moss A., Chrystal P., Cadogan D., 2020. 2020 International Poultry Scientific Forum, 32.
Moss A., Chrystal P., Cadogan D., Wilkinson S.J., Crowley T.M., Choct M., 2021. Anim. Biosci., (34), 354-362.
Pomar C., Remus A., 2019. Animal Front., (9), 52-59.

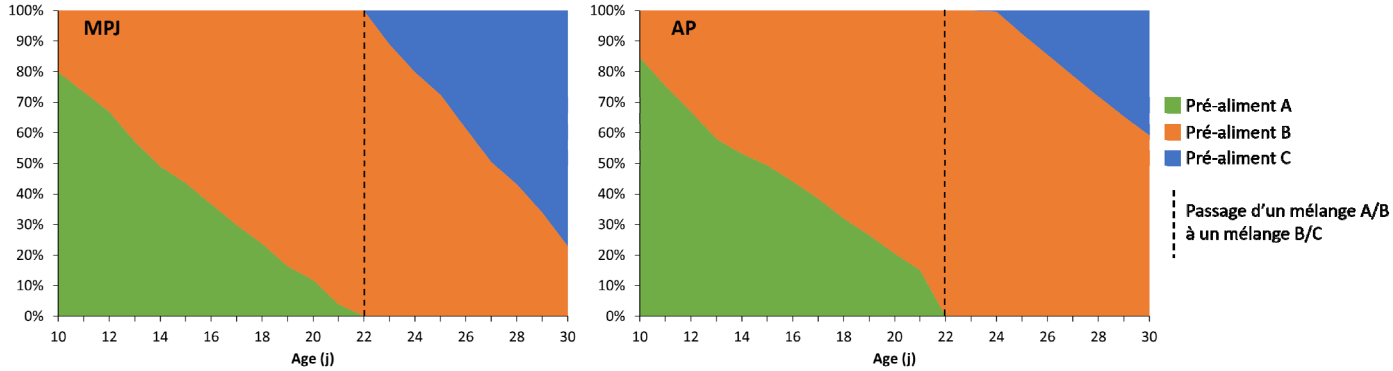


Figure 1. Composition du mélange quotidien distribué dans les stratégies MPJ et AP.

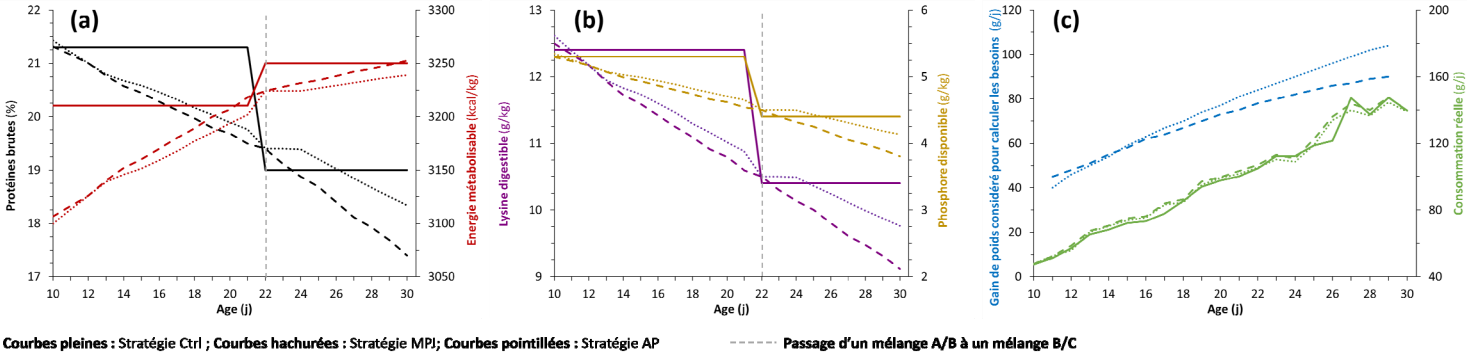


Figure 2. Valeurs nutritionnelles quotidiennes des mélanges MPJ et AP (a, b). Gain de poids théorique utilisé pour calculer les besoins quotidiens des lots MPJ et AP, et consommation journalière associée (c).

Tableau 1. Composition et valeurs nutritionnelles des aliments et pré-aliments expérimentaux.

Aliment	Démarrage (J0-J9)	Croissance (J10-J21)	Finition (J22-J31)	Pré-aliment A (J10-J21)	Pré-aliment B (J10-J31)	Pré-aliment C (J-22-J31)
Composition (%)						
Blé	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Maïs	34,76	42,54	49,05	43,24	47,95	55,92
Tourteau de soja Expeller	32,19	33,55	29,44	3,18	25,97	19,01
Tourteau de soja 48	3,24	1,59		30,86	4,64	4,14
Tourteau de tournesol Hipro	7,17					
Huile de soja	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Minéraux + premix	2,38	2,13	1,71	2,31	1,72	1,40
Lysine HCl	0,44	0,36	0,26	0,43	0,24	0,21
DL-Méthionine	0,40	0,39	0,29	0,41	0,29	0,20
Thréonine	0,21	0,19	0,13	0,23	0,12	0,09
Arginine	0,03	0,09	0,04	0,13		
Valine	0,18	0,16	0,07	0,21	0,07	0,02
Tryptophane			0,01			0,01
Valeurs nutritionnelles (%)						
Energie métabolisable (kcal/kg)	3087	3212	3250	3077	3224	3261
Matières grasses	8,42	8,71	8,55	6,53	8,28	7,95
Protéines brutes	23,50	21,30	19,00	21,80	19,40	16,80
Lysine digestible	1,37	1,24	1,04	1,30	1,05	0,87
Méthionine + Cystéine digestibles	1,02	0,94	0,81	0,97	0,82	0,68
Tryptophane digestible	0,24	0,21	0,19	0,22	0,19	0,17
Thréonine digestible	0,89	0,82	0,70	0,86	0,70	0,59
Valine digestible	1,10	0,99	0,83	1,04	0,84	0,70
Arginine digestible	1,41	1,29	1,10	1,35	1,10	0,92
Calcium total	0,86	0,76	0,62	0,81	0,63	0,50
Phosphore disponible	0,43	0,38	0,31	0,40	0,31	0,25
Phosphore total	0,64	0,53	0,44	0,55	0,45	0,36
Prix (€/t)	343	338	304	312	297	266

Tableau 2. Performances zootechniques, excrétion totale d'azote et phosphore, et coût alimentaire sur la période J10-J31 pour les trois stratégies alimentaires testées.

	Stratégie				
	Ctrl	**MPJ**	**AP**	**SEM**	**P**
Performances zootechniques (g)					
Poids vif J31	1808	1794	1783	9,1	0,56
Gain de poids	1541	1528	1517	9,2	0,58
Consommation cumulée	2032	2079	2044	12,3	0,27
Indice de consommation (kg/kg vif)	$1,318^{c}$	$1,361^{a}$	$1,347^{b}$	0,005	**<0,001**
Excrétion totale (kg/t de gain)					
Azote	13,7	13,5	14,3	0,07	0,23
Phosphore	$1,6^{a}$	$1,2^{c}$	$1,4^{b}$	0,04	**<0,001**
Coût alimentaire (€/t gain)	428^{a}	399^{b}	394^{b}	4,0	**<0,001**

SEM : Standard Error of the Mean – Erreur standard

IMPACTS RELATIFS DE L'ENERGIE ET DE LA PROTEINE DE L'ALIMENT SUR LES PERFORMANCES DES POULETS DE CHAIR ROSS 308

Bignon Laure[1], Gestin Olivier[1], Crenn Edith[1], Yang Bijie[1], Margetyal Carole[2]

[1]WISIUM FRANCE - Route de Talhouët - 56250 SAINT-NOLFF,
[2]ADM - Rue de l'Eglise - 02400 CHIERRY
Laure.bignon@wisium.com

RÉSUMÉ

L'utilisation de formules concentrées en énergie, protéine et acides aminés permet de maximiser les performances zootechniques. Toutefois dans le contexte économique actuel de coûts de matières premières très élevés, l'exploration de leviers potentiels d'économie, tout en préservant les performances, est nécessaire. L'objectif de cet essai était donc de définir si la baisse des niveaux en protéine et énergie pouvait être envisagée sans dégrader les performances des poulets. Ainsi 300 poussins Ross 308 mâles ont été répartis selon 5 traitements, dans 12 cages par traitement (5 animaux/cage), et nourris selon un programme alimentaire en 4 phases : démarrage (0-11 jours), croissance (11-21 jours), finition (21-28 jours) et retrait (28-39 jours). Le témoin positif (TP) a été formulé avec des niveaux en énergie, protéine et lysine proches des recommandations du sélectionneur. Les autres régimes ont été déconcentrés de 3% en énergie ou de 5% en protéine équilibrée à partir soit de la phase croissance (E-$_{CFR}$; PB-$_{CFR}$) soit de la phase finition (E-$_{FR}$; PB-$_{FR}$). Les ratios entre protéine et acides aminés essentiels étaient identiques. Les animaux ont été pesés individuellement et leur consommation contrôlée à J11, J21, J28 et J39. Entre J11 et J21, la consommation moyenne journalière (CMJ) de E-$_{CFR}$ était significativement la plus importante ($p<0,01$; 115,1g vs 108,1g) et l'indice de consommation (IC) significativement plus élevé que ceux de TP, E-$_{FR}$ et PB-$_{FR}$. L'IC de la stratégie PB-$_{CFR}$ était intermédiaire ($p<0,01$; IC11-21 E-$_{CFR}$ 1,44, PB-$_{CFR}$ 1,43, TP 1,39). Bien que sur la période globale 0-39 jours aucune différence significative n'ait été mise en évidence sur la CMJ, le gain moyen quotidien (GMQ) et l'IC, le poids (PV) à 39 jours de E-$_{FR}$ était significativement plus élevé que celui des régimes PB-$_{CFR}$ et PB-$_{FR}$ (PV39j E-$_{FR}$: 3294g ; PB-$_{CFR}$ 3147g ; PB-$_{FR}$ 3143g). Les PV des autres régimes étaient intermédiaires (PV39j TP : 3251g ; E-$_{CFR}$: 3239g). En conclusion, la baisse de 5% en protéine et lysine a affecté négativement le poids des poulets Ross 308 tandis que la baisse de 3% en énergie n'a pas modifié leurs performances (PV et IC). Par ailleurs, la baisse de 3% en énergie à partir de 28 jours d'âge est efficace pour limiter le coût alimentaire par kilo de croît. Ainsi, cette stratégie représente bien un levier pour limiter le coût des aliments à performances équivalentes.

ABSTRACT
IMPACT OF ENERGY AND PROTEIN ON PERFORMANCE OF BROILER CHICKENS ROSS 308
In order to maximize the performance of standard broilers, common used formula are rather rich in energy and protein. Facing the current economic context, it is necessary to explore potential saving levers while preserving the performance. The objective of this trial was to determine if the reduction of energy and protein could be considered without degrading the performance. 300 Ross 308 male chicks were distributed to 5 treatments and 12 repetitions (5 animals each). A 4-phase feeding program was used: starter (0-11days), grower (11-21days), finisher (21-28days) and withdraw (28-39days). The positive control was formulated with common practiced energy, protein and lysine level. The other diet removed either 3% of energy or 5% of balanced protein from the grower (E-$_{CFR}$; PB-$_{CFR}$) or from the finisher (E-$_{FR}$; PB-$_{FR}$). The ratio between protein and amino acids remained identical. All animals were weighed individually and their feed intake was registered at d11, d21, d28 and d39. Between d11 and d21, the average daily feed intake (ADFI) of E-$_{CFR}$ was significantly the highest ($p<0.01$; ADFI11-21 115.1g vs 108.1g) and feed conversion ratio (FCR) was significantly higher than TP, E-$_{FR}$ and PB-$_{FR}$, while PB-$_{CFR}$ was in between ($p<0.01$; FCR11-21 E-$_{CFR}$ 1.44, PB-$_{CFR}$ 1.43, TP 1.39). Although the overall 0-39 period showed no significant difference between treatments in ADFI, average daily gain (ADG) and FCR, the live weight (LW) at 39 days of E-$_{FR}$ was significantly higher than PB-$_{CFR}$ and PB-$_{FR}$ (LW39d E-$_{FR}$: 3294g; PB-$_{CFR}$ 3147g; PB-$_{FR}$ 3143g). The LW of other diets were in between (LW39d TP: 3251g ; E-$_{CFR}$: 3239g). In conclusion, a 5% decrease in current protein and lysine level negatively impacted the body weight of Ross 308 broilers while 3% reduction in energy had no impact on LW and FCR. Furthermore, 3% reduction in energy from 28 days of age is efficient to decrease feed cost per kilo of weight gain. Thus this trial confirmed that reduction of current energy level from 28 days of age can be a lever to limit the feed cost with equivalent performance.

INTRODUCTION

L'utilisation de formules concentrées en énergie, protéine et acides aminés, proches des recommandations du sélectionneur (Aviagen, 2019) et utilisées dans le reste de l'Europe, permet de maximiser les performances zootechniques. Toutefois dans le contexte économique actuel avec des coûts de céréales, tourteaux et acides aminés, qui explosent (ITAVI, 2021), associés à des pénuries de ces matières premières, l'exploration de leviers d'économie potentielle et d'épargne des ressources, tout en préservant les performances, est souhaitable. Alors que l'augmentation des besoins en acides aminés digestibles pour faire face à l'amélioration des croissances, des indices de consommation et des rendements filets ne fait aucun doute, les conclusions sur les réponses à l'énergie des poulets sont plus mitigées (Maharjan *et al.,* 2021). En effet, l'apport en énergie doit être suffisant pour permettre la couverture des besoins d'entretien et l'optimisation du dépôt de protéines sans dépôt de gras (Aftab, 2019). Entre 2000 et 2019, l'âge d'abattage des poulets standard est passé de 40 à 36 jours d'âge (ITAVI, 2020), par conséquent les besoins d'entretien des animaux, et donc d'énergie, ont été réduits. En parallèle, la composition de carcasse a évolué vers une viande plus maigre ce qui amplifie ce phénomène puisque le dépôt de protéine demande moins d'énergie que le dépôt de gras. En revanche, le besoin en acides aminés équilibrés reste élevé pour satisfaire la croissance musculaire importante (Aftab, 2019).

Par ailleurs, la quantité d'aliment ingérée spontanément par les poulets conditionne la quantité de nutriments disponibles pour la croissance. Les critères de régulation de l'ingéré des poulets de chair sont remis en question. Deux théories de la régulation de l'ingéré des poulets s'opposent et semblent dépendre de la souche et des méthodes de sélection. La première fait l'hypothèse que le poulet consomme, dans la limite de ses capacités physiques, la quantité d'aliment nécessaire pour ingérer le niveau d'énergie dont il a besoin et la seconde qu'il régule sa consommation sur le premier nutriment limitant qui peut être l'énergie comme la protéine ou un des acides aminés essentiels (Mbajiorgu *et al.,* 2011). D'autres facteurs jouent également un rôle sur l'ingestion volontaire des poulets comme l'appétence de l'aliment (présentation, niveau de matière grasse) et l'adéquation des transitions alimentaires qui leur sont proposées (Bouvarel *et al.,* 2010).

L'objectif de cet essai était donc de définir si la baisse des niveaux en protéine équilibrée et énergie pouvait être envisagée sans dégrader les performances des poulets Ross 308.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

300 poussins Ross 308 mâles de 1 jour ont été répartis selon 5 traitements, dans 12 cages de 5 animaux par traitement. Ils ont été nourris selon un programme alimentaire en 4 phases : démarrage (miettes, 0-11 jours), croissance (granulés coupés courts, 11-21 jours), finition (granulés, 21-28 jours) et retrait (granulés, 28-39 jours). Le témoin positif (TP) a été formulé avec des niveaux en énergie métabolisable, protéine et lysine digestible proches des recommandations du sélectionneur. Les autres régimes ont été déconcentrés de 3% en énergie (E-) ou de 5% en protéine équilibrée (PB-) à partir de la phase croissance ($E\text{-}_{CFR}$; $PB\text{-}_{CFR}$) ou de la phase finition ($E\text{-}_{FR}$; $PB\text{-}_{FR}$). Les ratios entre protéine et acides aminés essentiels étaient identiques. Les valeurs nutritionnelles des aliments sont présentées dans le Tableau 1 et la composition des différents aliments est disponible en Tableau 2. Ce dernier montre également l'évolution tarifaire entre 2 contextes de prix de matières premières, utilisés pour l'étude du coût alimentaire : un contexte théorique proche de celui de septembre 2020 et un autre proche de celui de janvier 2022.

1.2. Contrôles et mesures

Les teneurs en humidité, protéines brutes, lysine totale et matières grasses des aliments ont été analysées au laboratoire pour valider la conformité avec les valeurs attendues (Laboratoire Upscience, France). La dureté (Kahl) et la durabilité (SABE) ont également été évaluées. La mortalité a été contrôlée quotidiennement et les animaux morts pesés. Les animaux chétifs ont été éliminés. Les animaux ont été pesés individuellement et leur consommation contrôlée aux transitions alimentaires à J11, J21, J28 et J39. Ainsi les données de poids vif (PV), gain moyen quotidien (GMQ), consommation moyenne journalière (CMJ) et indice de consommation (IC) ont pu être analysées.

1.3. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel R (v4.0.3). Les données zootechniques (poids, croissance, consommation, indice de consommation, ingérés protéiques et énergétiques) ont été soumises à une analyse de variance à un facteur selon un modèle linéaire au seuil de 5%. Le facteur fixe du modèle était le traitement et l'unité statistique la cage. En cas de différence significative, les traitements ont été comparés deux à deux par un test de comparaison des moyennes de Tukey au seuil de 5%. Le pourcentage de mortalité a été étudié avec un test non paramétrique de Kruskal-Wallis au seuil de 5%. Pour affiner l'intérêt économique des traitements présentés, le coût alimentaire (CA) par kg de gain de poids sur toute la durée d'élevage a été calculé dans deux

contextes de prix différents selon la formule suivante : (Coût démarrage * CMJ011 + Coût croissance * CMJ1121 + Coût Finition * CMJ2128 + Coût Retrait * CMJ2839)/(GMQ039cage*1000). Cet indicateur a également été soumis à une analyse de variance à un facteur selon un modèle linéaire au seuil de 10%.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Valeurs nutritionnelles des aliments

Le niveau en protéines brutes des aliments était en moyenne plus faible que l'attendu dans la limite de 0,6 points, proche de l'incertitude analytique (Tableau 1). La hiérarchie entre les régimes a été conservée pour chacune des phases à l'exception du régime finition pour lequel le régime TP était au même niveau que les régimes déconcentrés en protéine (PB-$_{CFR}$ et PB-$_{FR}$). Ainsi, dans les calculs d'ingérés protéiques, le même niveau de protéines a été considéré en finition pour les aliments TP et PB-. Les résultats de dureté et durabilité des granulés étaient conformes et similaires entre les traitements : croissance : 1,2 N et 91% ; finition : 2,3 N et 86% et retrait : 1,4 N et 77%.

2.2. Résultats zootechniques

La mortalité était identique entre les régimes ($p>0,05$).
Conformément à l'attendu, l'aliment démarrage étant le même pour l'ensemble des traitements, aucune différence de performances n'a été observée à l'issue de la période de démarrage (0-11 j) : GMQ : 26,4±0,3 g, CMJ: 33,1±0,3 g et IC: 1,249±0,006 ($p>0,05$).
En croissance, la consommation la plus importante a été relevée pour le régime le moins riche en énergie E-$_{CFR}$ (115g/j). Cette consommation était significativement différente de celle des animaux du régime PB-$_{FR}$ (106g/j) ; les autres régimes présentaient des consommations intermédiaires (108, 109 g/j ; Tableau 3). En finition, retrait et sur la période globale, les consommations moyennes journalières étaient similaires quel que soit le régime considéré.
En croissance et sur l'ensemble de la durée d'élevage, les GMQ étaient identiques quel que soit le régime . En finition, le GMQ du régime E-$_{CFR}$ (111g/j) était significativement supérieur à celui du régime TP (104g/j), les autres régimes présentaient des valeurs intermédiaires (E-$_{FR}$: 110 ; PB-$_{FR}$: 107g/j ; PB-$_{CFR}$: 106g/j ; Tableau 3). Les différences de GMQ étaient à la limite de la tendance en retrait ($p=0,10$) entre les régimes TP et E-$_{FR}$ à 126 et 125 g/j respectivement et les GMQ des autres régimes de 117 et 118 g/j. En fin d'élevage, des différences ont été observées sur le PV à 39 jours. Les animaux les plus lourds ont été observés dans le régime E-$_{FR}$ et les plus légers dans le régime PB-$_{FR}$, les animaux des autres régimes présentaient des poids intermédiaires.
En croissance, les IC les plus faibles ont été enregistrés pour les régimes TP, E-$_{FR}$ et PB-$_{FR}$ (dont les aliments étaient identiques) et le plus élevé pour le régime E-$_{CFR}$. Le régime PB-$_{FR}$ a donné lieu à un IC intermédiaire (IC11-21 : TP, E-$_{FR}$, PB-$_{FR}$ =1,391 ; PB-$_{CFR}$=1,434 et E-$_{CFR}$=1,443 ; $p<0,01$; Tableau 3). En retrait, l'IC du régime TP était significativement meilleur que celui du régime PB-$_{FR}$ (1,685 vs 1,780 ; $p\leq0,05$) ; les autres régimes étant intermédiaires et numériquement plus proches du régime PB-$_{FR}$. En finition et sur l'ensemble de la période d'élevage (0-39j), aucune différence significative n'a été mise en évidence sur les IC 0-39. Au global, numériquement, les IC les moins bons ont été obtenus pour les régimes déconcentrés en protéine équilibrée et en énergie dès la phase croissance et les meilleurs pour les régimes déconcentrés à partir de la phase finition (Tableau 3).

2.3. Ingestion protéique et énergétique

Quelle que soit la phase d'élevage considérée, les ingérés énergétiques étaient similaires entre les régimes mais l'ingéré protéique a été affecté par les différents régimes. En effet, sur chaque phase d'élevage considérée et sur la période globale, l'ingestion en protéines des régimes E- était plus importante que celle des régimes TP et PB- ($p<0,01$; Tableau 3).

2.4. Coût alimentaire

Au final, le coût alimentaire par kg de gain de poids vif n'était pas significativement affecté dans un contexte de prix proche de celui de 09/2020 mais une tendance statistique se dégage dans un contexte de prix élevé de matières premières tel que nous le connaissons aujourd'hui avec le coût alimentaire le plus faible pour le régime E-$_{FR}$ et le plus élevé pour le régime TP (2,43€/kg vs 2,52€/kg), les autres régimes étant intermédiaires (Tableau 3).

2.5. Discussion

Dans notre essai, comme dans celui de Leeson *et al.* (1996), les poulets de chair ont régulé leur consommation à partir de 11 jours sur la valeur énergétique de l'aliment. Cet effet n'était pas toujours perceptible sur les écarts observés de consommation journalière. Au global, cette régulation semble avoir permis une ingestion en protéines plus importante des régimes bas en énergie et donc des GMQ des régimes E- identiques à supérieurs à ceux du TP. En revanche, malgré l'absence de différences significatives, les IC des régimes déconcentrés à partir du finition ont été numériquement meilleurs que le TP alors que les régimes déconcentrés dès le croissance présentaient des IC plus élevés.
Dans cet essai, contrairement à ce qu'avaient observé Shariatmadari et Forbes (1993) avec la mise à disposition de 2 aliments avec des niveaux protéiques différents, aucune régulation n'a été mise en évidence sur l'ingéré protéique, les aliments les moins concentrés en protéines ayant entraîné les ingérés protéiques les plus faibles sur chaque phase d'alimentation. Cet effet a pu être exacerbé par le

niveau plus faible en lysine de ces régimes PB-. En effet, Soglia *et al.* (2021) ont mis en évidence l'impact négatif de la baisse de lysine sur l'appétit de poulets Ross 308. Selon eux, cet effet dépréciatif de l'ingéré pourrait être en lien avec le niveau de lysine plasmatique ou avec le ratio entre la lysine et d'autres nutriments comme l'énergie métabolisable.
En complément, dans l'essai de Van Harn *et al.* (2019), les régimes déconcentrés de 1 à 3% en protéine ont permis des améliorations de l'IC. Cette contradiction apparente peut être expliquée par la baisse concomitante, dans notre étude, de la lysine, de l'ensemble des acides aminés essentiels et de la protéine brute alors que van Harn *et al.* (2019) avaient maintenu la lysine et l'ensemble des acides aminés, y compris glycine + serine constants. Ce constat semble indiquer que, sur les régimes déconcentrés en protéine et acides aminés de notre étude, le bon équilibre entre énergie et protéine et/ou les acides aminés essentiels n'a pas été respecté. Les mesures de gras abdominal qui permettraient de discuter l'impact des régimes et de l'équilibre énergie / acides aminés sur l'engraissement des carcasses, bien qu'envisagées, n'ont pas pu être réalisées de façon fiable dans nos conditions expérimentales.

CONCLUSION

Dans cet essai, nous avons observé une régulation de la consommation d'aliment sur la teneur en énergie depuis la phase de croissance jusqu'à la phase de retrait. La baisse de 5% en protéine équilibrée a affecté négativement le poids des poulets Ross 308 tandis que la baisse de 3% en énergie n'a pas modifié leurs performances (PV et IC). Par ailleurs, quel que soit le contexte de prix des matières premières, la baisse de 3% en énergie à partir de 28 jours d'âge est ce qui a limité le plus efficacement le coût alimentaire par kilo de croît. Ainsi, cette stratégie représente bien un levier pour limiter le coût des aliments à performances équivalentes. Une attention particulière doit cependant être portée à l'équilibre entre le niveau énergétique et le niveau protéique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aftab U., 2019. Worlds. Poult. Sci. J., (75), 1□8.
Aviagen, 2019. Aviagen, 1□10.
Bouvarel I., Tesseraud S., Leterrier C., 2010. Prod. Anim., (23), 391□404.
Van Harn J., Dijkslag M.A., Van Krimpen M.M., 2019. Poult. Sci., (98), 4868□4877.
ITAVI, 2021. 1□2. Consultable : https://www.itavi.asso.fr/build/2021-12_note_indice.c1face25.pdf.
ITAVI, 2020. 35 p. Consultable : https://www.itavi.asso.fr/publications/performances-techniques-et-couts-de-production-en-volailles-de-chair-resultats-2019?themes=13&species=7&order=date.
Leeson S., Caston L., Summers J.D., 1996. Poult. Sci., (75), 529□535.
Maharjan P., Martinez D.A., Weil J., Suesuttajit N., Umberson C., Mullenix G., Hilton K.M., Beitia A., Coon C.N., 2021. Animal.
Mbajiorgu C.A., Ng'ambi J.W., Norris D.D., 2011. Asian J. Anim. Vet. Adv., (6), 20□28.
Shariatmadari F., Forbes J.M., 1993. Br. Poult. Sci., (34), 959□970.
Soglia F., Zampiga M., Baldi G., Malila Y., Thanatsang K. V., Srimarut Y., Tatiyaborworntham N., Unger O., Klamchuen A., Laghi L., Petracci M., Sirri F., 2021. Animals, (11).

Tableau 1. Valeurs nutritionnelles des aliments selon les stratégies alimentaires.

	Démarrage 1-11j	**Croissance 11-21j**			**Finition 21-28j**			**Retrait 28-39j**		
	Commun	**TP E-$_{FR}$ PB-$_{FR}$**	**E-$_{CFR}$**	**PB-$_{CFR}$**	**TP**	**E-$_{CFR}$ E-$_{FR}$**	**PB-$_{CFR}$ PB-$_{FR}$**	**TP**	**E-$_{CFR}$ E-$_{FR}$**	**PB-$_{CFR}$ PB-$_{FR}$**
Energie métabolisable* (kcal/ kg)	2950	3050	2950	3050	3100	3000	3100	3150	3050	3150
Protéines Brutes théo	22,7	20,4	20,4	19,5	18,7	18,7	17,8	17,3	17,3	16,4
Analysées (%)	*22,3*	*19,8*	*20,3*	*19,1*	*17,4*	*18,4*	*17,5*	*16,8*	*16,9*	*16*
Matières Grasses (%)	5,0	5,4	4,7	5,0	5,4	3,6	4,9	5,8	4,6	5,5
Lysine dig (%)	1,27	1,14	1,14	1,08	1,04	1,04	0,99	0,95	0,95	0,9
Met dig/lys dig (%)	0,49	0,48	0,48	0,46	0,46	0,46	0,46	0,45	0,45	0,45
M+C dig/lys dig (%)	0,72	0,72	0,72	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,72
Thr dig/lys dig (%)	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,65	0,65	0,65
Trp dig/lys dig (%)	0,21	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Ile dig/lys dig (%)	0,67	0,67	0,66	0,66	0,66	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Val dig/lys dig (%)	0,77	0,75	0,81	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Arg dig/lys dig (%)	1,04	1,02	1,04	1,01	1,02	1,02	1,02	1,02	1,01	1,01

**L'énergie métabolisable est donnée en système énergétique WISIUM.*

Tableau 2. Composition en matières premières (%) des aliments par phase selon les stratégies alimentaires.

	Prix €/t	Démarrage 1-11j	Croissance 11-21j			Finition 21-28j			Retrait 28-39j		
	Evolution	Commun	TP E_{FR} PB_{FR}	E_{CFR}	PB_{CFR}	TP	E_{CFR} E_{FR}	PB_{CFR} PB_{FR}	TP	E_{CFR} E_{FR}	PB_{CFR} PB_{FR}
Blé	+100	31,0	22,8	31,8	26,0	24,9	30,6	31,5	25,5	28,0	29,5
Maïs	+70	25,5	40,0	29,5	40,0	43,0	40,0	40,0	45,1	43,2	43,9
Son de blé	+50	-	-	-	-	-	-	-	1,0	1,0	1,0
Tx de soja 48	+120	34,0	29,2	25,0	26,5	24,5	24,0	21,8	20,5	19,0	18,0
Tx de tournesol 28	+100	3,0	2,0	8,0	1,9	2,0	1,5	1,5	1,0	3,1	1,0
Tx de colza déshuilé	+110	-	-	-	-	-	-	-	1,0	1,0	1,0
Huile de colza	+840	2,95	3,10	2,65	2,70	3,05	1,30	2,60	3,45	2,25	3,15
Carbonate de calcium	0	0,61	0,27	0,33	0,33	0,27	0,29	0,27	0,41	0,42	0,43
Phosphate bicalcique	+570	1,10	0,86	0,79	0,86	0,57	0,55	0,56	0,57	0,55	0,57
Bicarbonate de sodium	0	0,15	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Sel raffiné	0	0,20	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
L-Lysine 78	+1200	0,300	0,295	0,360	0,300	0,305	0,315	0,320	0,300	0,325	0,300
DL-Méthionine	+800	0,310	0,265	0,250	0,230	0,215	0,215	0,200	0,180	0,175	0,165
L-Thréonine	+1650	0,110	0,095	0,105	0,090	0,090	0,095	0,095	0,065	0,065	0,060
L-Valine	+100	0,070	0,030	0,110	0,030	0,030	0,030	0,040	0,020	0,020	0,020
L-Arginine	+1700	-	-	-	-	0,020	0,030	0,040	0,030	0,020	0,030

Tx = Tourteaux ; l'évolution des prix des matières premières est simulée entre la situation de 09/2020 et la situation de 01/2022. Prémix avec phytase et xylanase à 0,5% et prémélange anticoccidiens (Maxiban®) à 0,2% de 0 à 28j (évolution entre 09/20 et 01/22 : +200€/t).

Tableau 3. Résultats zootechniques et économiques obtenus avec les différentes stratégies alimentaires.

	TP		E_{CFR}		PB_{CFR}		E_{FR}		PB_{FR}		P-value
	Moy.	SEM	Moy.	SEM	Moy.	SEM	Moy.	SEM	Moy.	SEM	
Phase Croissance 11-21 j											
PV 21j (g)	1101	±25	1145	±14	1093	±18	1124	±6	1104	±19	0,22
GMQ (g/j)	76,9	±1,6	79,9	±1,2	76,0	±1,1	78,3	±0,6	76,1	±1,5	0,17
CMJ (g/j)	108	±1,9 **ab**	115	±1,5 **b**	109	±1,8 **ab**	109	±0,9 **ab**	106	±2,1 **a**	**<0,01**
Ingéré E (kcal)	3304	±56	3394	±47	3326	±57	3334	±24	3227	±60	0,22
Ingéré PB (g)	222	±4 **ab**	236	±3 **a**	213	±4 **b**	224	±2 **ab**	217	±4 **b**	**<0,001**
IC	1,387	±0,013 **a**	1,443	±0,008 **b**	1,434	±0,009 **ab**	1,394	±0,015 **a**	1,391	±0,013 **a**	**<0,01**
Phase Finition 21-28 j											
PV 28j (g)	1838	±25 **b**	1925	±15 **a**	1833	±24 **b**	1895	±12 **ab**	1865	±25 **ab**	**<0,05**
GMQ (g/j)	104	±2,0 **b**	111	±1,2 **a**	106	±2,0 **ab**	110	±1,2 **ab**	107	±1,4 **ab**	**<0,05**
CMJ (g/j)	167	±1,8	173	±1,4	165	±2,7	170	±2,9	167	±2,6	0,14
Ingéré E (kcal)	3627	±39	3630	±29	3575	±58	3573	±58	3628	±59	0,84
Ingéré PB (g)	205	±2 **b**	224	±2 **a**	202	±3 **b**	220	±4 **a**	205	±3 **b**	**<0,001**
IC	1,598	±0,021	1,554	±0,016	1,549	±0,018	1,545	±0,014	1,565	±0,013	0,17
Phase Retrait 28-39 j											
PV 39j (g)	3251	±36 **AB**	3239	±57 **AB**	3147	±41 **AB**	3294	±19 **A**	3143	±48 **B**	**<0,05**
GMQ (g/j)	126	±2,0	118	±4,9	118	±2,9	125	±1,7	117	±2,6	0,10
CMJ (g/j)	212	±3,5	212	±4,8	214	±4,0	216	±2,1	209	±3,6	0,79
Ingéré E (kcal)	7347	±116	7106	±161	7410	±136	7239	±73	7255	±133	0,52
Ingéré PB (g)	403	±6 **ab**	403	±9 **ab**	386	±7 **ab**	411	±4 **a**	378	±7 **b**	**<0,01**
IC	1,685	±0,014 **a**	1,774	±0,034 **ab**	1,758	±0,024 **ab**	1,738	±0,015 **ab**	1,780	±0,020 **b**	**<0,05**
Période globale 0-39 j											
GMQ (g/j)	82,2	±0,9	81,9	±1,5	79,9	±1,2	83,3	±0,5	80,0	±1,2	0,13
CMJ (g/j)	124	±2	127	±2	127	±3	125	±2	120	±2	0,11
Ingéré E (kcal)	15349	±234	15314	±168	15665	±190	15261	±139	15100	±209	0,38
Ingéré PB (g)	913	±14 **abc**	951	±11 **a**	898	±11 **bc**	940	±8 **ab**	876	±12 **c**	**<0,001**
IC	1,523	±0,025	1,532	±0,019	1,550	±0,026	1,508	±0,028	1,508	±0,022	0,73
CA 09/20	1,72	±0,01	1,70	±0,01	1,71	±0,02	1,68	±0,02	1,70	±0,02	0,42
CA 01/22	2,52	±0,02 **B**	2,46	±0,02**AB**	2,50	±0,02**AB**	2,43	±0,03 **A**	2,49	±0,02**AB**	**<0,1**

a, b, c et A, B, C : différences significatives au seuil respectivement de 5 et 10% ; SEM : Standard Error of the Mean, soit erreur type; GMQ : Gain moyen quotidien ; CMJ : consommation moyenne journalière ; IC : Indice de consommation ; E : énergie métabolisable ; PB : Protéines brutes ; CA : coût alimentaire en € par kg de croît.

SESSION NUTRITION

Synthèse

SYSTEME ENERGETIQUE ET REDUCTION DES APPORTS DE PROTEINES EN PRODUCTION AVICOLE

Noblet Jean[1], Cayzac Angélique[2], Cozannet Pierre[2]

[1]Retraité INRAE, consultant *[2]ADISSEO France SAS, 10 Pl. du Général de Gaulle, 92160 ANTONY, France*

jean.noblet56@orange.fr

RÉSUMÉ

L'alimentation du poulet de chair représente une part majeure de son coût de production, l'apport d'énergie contribuant à souvent plus des 2/3 du coût alimentaire. Par ailleurs, on assiste à une diversification progressive des ressources alimentaires en ayant recours à des matières premières peu utilisées jusqu'à présent en aviculture, tout en prenant en compte l'évolution des besoins des animaux avec une précision accrue et des objectifs de durabilité des systèmes de production avicole. A cet égard, une valorisation maximale des protéines alimentaires et la réduction des rejets d'azote dans les excréta sont recherchées au travers d'une diminution de la teneur en protéines des aliments tout en maintenant les apports d'acides aminés essentiels. Les données de la bibliographie indiquent que l'abaissement de la teneur en protéines est réalisable avec des conséquences limitées sur les performances du poulet de chair; toutefois, l'indice de consommation est légèrement plus élevé et surtout l'adiposité de l'animal est accrue. Ce point pose la question de l'estimation de la valeur énergétique des aliments et les possibles limites du système énergie métabolisable (EMA), en particulier la valeur EMA ajustée pour un bilan azoté nul (EMAn). D'autres systèmes basés sur la valeur EMA standardisée pour une rétention azotée du poulet comparable à la pratique (EMAs) ou sur la valeur énergie nette (EN) sont décrits. L'impact du choix du système (EMAn vs EMAs vs EN) sur les valeurs énergétiques relatives de matières premières types et les résultats de la formulation d'aliments complets pour le poulet de chair dans différents contextes nutritionnels et de coût des matières premières est évalué, en particulier lorsque la teneur en protéines des aliments est réduite. En conclusion, la synthèse suggère la nécessité de poursuivre des travaux sur le métabolisme des acides aminés essentiels et non essentiels chez le poulet de chair et de continuer à affiner les systèmes énergétiques en volailles.

ABSTRACT

Energy evaluation system and reduction of protein supplies in poultry production

Feeding broilers represents the most important cost of their production, energy contributing to more than 2/3 of the feed cost. A progressive diversification of the feed resources is also observed by using not commonly used ingredients in a context of changes of broilers nutritional requirements that should be more accurate and adapt to sustainability concerns for poultry production. On these bases, a maximized efficiency of dietary protein and an associated reduction of N in excreta are targeted via a reduction of the dietary crude protein level combined with constant essential amino acids levels in the diet. Literature results indicate that achieving that reduction of dietary protein level is possible with minor consequences on performance. However, the feed efficiency is slightly decreased and the body fatness is increased. These latter results suggest some limits in energy evaluation systems used in poultry production, especially the metabolizable energy (AME) system corrected for zero nitrogen balance (AMEn). Other systems based either on AME standardised for the actual nitrogen retention observed in broilers (AMEs) or on net energy (NE) are described. The impact of energy system (AMEn vs AMEs vs NE) on relative energy values of typical ingredients and the results of least-cost formulation of complete feeds for broilers in different nutritional situations and costs of ingredients is evaluated, especially for preparing diets with reduced crude protein levels. In conclusion, this review suggests to keep studying the metabolism of essential and non-essential amino acids in broilers and to refine energy evaluation systems for poultry feeds.

INTRODUCTION

L'alimentation du poulet de chair ou, dans une moindre mesure, de la poule pondeuse représente une part majeure du coût de production total avec l'apport d'énergie contribuant à souvent plus des 2/3 du coût alimentaire. Par ailleurs, on assiste à une diversification progressive des ressources alimentaires avec le recours à des nouvelles matières premières peu utilisées jusqu'à présent en aviculture (co-produits, par exemple), tout en prenant en compte les évolutions des besoins des animaux et ce avec une précision accrue (alimentation de précision) de façon à mieux adapter l''aliment à l'animal tout en minimisant le "gaspillage" de nutriments et d'énergie (Méda et al., 2019).

Dans ce contexte et comme pour la production porcine par exemple, la meilleure connaissance des besoins en acides aminés (AA) du poulet de chair ou de la poule pondeuse ainsi que la nécessité de réduire les rejets d'azote dans les excréta et/ou le moindre recours aux matières premières d'importation riches en protéines telles que le tourteau de soja ont conduit à abaisser le taux de protéines des aliments tout en maintenant, voire accroissant légèrement, les apports d'AA essentiels dans les aliments et recourant alors plus aux AA de synthèse apportés sous forme libre (Cappelaere et al., 2021). Ce contexte incite également à disposer d'outils d'évaluation des aliments et des besoins des animaux qui soient de plus en plus performants et à même d'apprécier la globalité du système de production animale. A cet égard, des interrogations se sont faites jour afin d'estimer au mieux la valeur énergétique des aliments (Noblet et al., 2022).

L'objectif de cette synthèse est donc de passer en revue les différents modes d'évaluation de l'énergie des aliments en production avicole en analysant plus précisément les interactions pouvant exister entre le système énergétique choisi et la teneur en protéines des matières premières et des aliments complets.

1. REDUCTION DE LA TENEUR EN PROTEINES DE L'ALIMENT ET PERFORMANCES EN PRODUCTION AVICOLE

Le besoin protéique du poulet de chair ou de la poule pondeuse consiste en un besoin d'AA essentiels non synthétisés par l'animal et à fournir dans des proportions optimales et d'acides aminés non essentiels dans des proportions en principe indifférenciées. Pour les AA essentiels, on définit alors, d'une part, le niveau de lysine – généralement premier acide aminé limitant - dans l'aliment et, d'autre part, le niveau minimal des autres AA essentiels relativement à la lysine (Rostagno et al., 2018). La diminution du taux de protéines de l'aliment se traduit par une réduction de la teneur de tous les AA mais de façon plus marquée pour quelques AA essentiels comme la lysine, la thréonine, les acides aminés soufrés (méthionine et cystine), le tryptophane ou la valine. Leur disponibilité sous forme libre permet alors de compenser ces déficits tout en continuant de réduire le taux de protéines. De nombreux travaux ont été réalisés sur ce thème au cours de la dernière décennie afin, d'une part, de préciser les besoins en tous les AA essentiels relativement à la lysine et leurs interactions éventuelles (notion de protéine idéale) et, d'autre part, le taux minimal de protéines et donc d'AA non essentiels (Chrystal et al., 2020; Kidd et al., 2021; Liu et al., 2021; Star et al., 2021). Le besoin en lysine, l'AA de référence, est fonction de facteurs liés à l'animal comme son âge, son génotype ou son stade physiologique. Une conséquence essentielle de cette diminution de la teneur en protéines et de la supplémentation en AA essentiels dans l'aliment est de fournir tous les AA dans des proportions de plus en plus optimales pour l'animal et, en conséquence, d'induire un moindre catabolisme des AA excédentaires par rapport au besoin du poulet de chair ou de la poule pondeuse. L'excrétion (urinaire) d'azote s'en trouve alors réduite avec, pour impact pratique, une diminution de 6 à 10% des quantités d'azote dans les excréta pour chaque point de protéines en moins dans l'aliment (tableau 1). L'association d'une réduction de la teneur en protéines dans l'aliment et de la supplémentation en quelques AA essentiels peut donc contribuer efficacement à améliorer la durabilité des systèmes de production avicole en diminuant à la fois le recours à des matières premières riches en protéines et l'impact de l'azote des excréta sur l'environnement.

Les effets de la réduction du taux de protéines de l'aliment sur les performances et l'état sanitaire du poulet de chair ont fait l'objet de très nombreuses études au cours des 2 dernières décennies (Lemme et al., 2019; Star et al., 2021). Ces études ont tout d'abord mis en évidence que l'ampleur de la réduction du taux de protéines était limitée, d'une part, par l'apparition de nouveaux AA essentiels qui deviennent limitants ou co-limitants (arginine, isoleucine, etc.) ou d'interactions entre AA essentiels (Ospina-Rojas et al., 2017) et, d'autre part, par l'apport insuffisant de certains AA non essentiels (glycine; Star et al., 2021) dont les rôles restent cependant à préciser. Les études ont aussi montré qu'une réduction modérée du taux de protéines associée à une couverture des besoins en AA essentiels affecte très modérément les performances du poulet de chair et avec une variabilité élevée des réponses. Une méta-analyse des données de la bibliographie (tableau 1) indique que l'ingestion d'aliment et d'EMAn est légèrement accrue sans que la vitesse de croissance soit modifiée; il en résulte alors une légère détérioration de l'indice de consommation. Cette surconsommation d'EMAn est associée à une adiposité des carcasses sensiblement

plus élevée dans la mesure où le dépôt de protéines indiqué par la vitesse de croissance est inchangé et/ou a atteint le potentiel de dépôt maximal du poulet.
De tels résultats suggèrent de poursuivre l'analyse des besoins en AA essentiels et non-essentiels du poulet lorsque le taux de protéines de l'aliment est réduit et en ayant recours à plus d'AA sous forme libre. Ils suggèrent aussi d'étudier les mécanismes de la régulation de la prise alimentaire afin d'éviter une consommation d'énergie excessive préjudiciable à l'indice de consommation et à la qualité de la carcasse. La réduction de la concentration en énergie de l'aliment tout en maintenant constant le rapport entre la lysine et l'énergie pourrait alors représenter une solution avec des régimes contenant plus de co-produits (riches en fibres) et/ou moins de matières grasses (Barekatain et al., 2021). Ceci conduirait aussi à ne plus formuler les aliments du poulet de chair pour une concentration en énergie immuable mais à l'adapter aux situations particulières d'aliments, par exemple, à faible teneur en protéines. Ceci pose enfin le problème de la représentativité des modes d'évaluation de l'énergie dans les aliments des volailles pour estimer le plus précisément possible la teneur en énergie "vraie" des aliments.

2. LES SYSTEMES ENERGETIQUES EN PRODUCTION AVICOLE

La description et l'analyse des systèmes énergétiques utilisés en production avicole a fait l'objet de plusieurs articles de synthèse, la plupart concernant presqu'exclusivement le système énergie metabolisable (EM) (Mateos et al., 2019; Wu et al., 2020). Comme l'indiquent ces auteurs, il demeure des confusions et un manque de standardisation des approches, tant dans les méthodes que dans leur application dans les tables de valeurs nutritionnelles ou dans la formulation des aliments. En effet, même si le concept de valeur EM vraie (TME) développé surtout en Amérique du Nord (Sibbald, 1982) est de moins en moins utilisé au profit du concept de valeur EM apparente (EMA) (Bourdillon et al, 1990), cette dernière fait l'objet de nombreuses variantes liées au type d'animal utilisé (poulet en croissance, coq adulte, poule pondeuse, etc.), au mode de présentation de l'aliment (farine vs miettes vs granulé), à l'éventuelle supplémentation en enzymes, etc. ou à la méthode de mesure elle-même (collecte totale des excréta ou marqueur) ou de calcul. Ces variantes affectent de façon parfois importante la valeur EMA de l'aliment (Noblet et al., 2022). Une complication supplémentaire vient de l'ajustement "historique" en production avicole de la valeur EMA pour un bilan azoté nul de l'animal (EMAn), en référence au modèle du coq adulte et à un objectif de standardisation des mesures entre des aliments ou des matières premières ayant des teneurs en matières azotées différentes. Dans ce contexte, les tables de valeurs nutritionnelles les plus récentes (CVB, 2018; INRAE, CIRAD et AFZ, 2018; Rostagno et al., 2017) se sont relativement harmonisées en proposant a minima des valeurs EMAn chez le poulet en croissance, sans que toutefois les conditions pour les données d'origine ou pour leur application comme la granulation ou le stade physiologique soient précisées. On peut aussi penser que des valeurs obtenues chez le coq adulte plus élevées que chez le poulet en croissance (Cozannet al., 2010), voire même des valeurs TME et surtout la non-correction pour un bilan azoté nul demeurent incluses dans ces tables et surtout chez les utilisateurs finaux. Ceci est illustré par une variabilité élevée des valeurs EMAn entre tables, même pour des ingrédients majeurs comme les céréales ou les principales sources de protéines, et ce indépendamment d'éventuelles différences de composition chimique de ces matières premières entre tables (Mateos et al., 2019). A titre d'exemple, les valeurs EMAn chez le poulet en croissance sont plus faibles (#-150 kcal/kg) pour le blé ou le maïs et légèrement plus élevées pour le tourteau de soja dans les Tables INRAE-CIRAD-AFZ que dans les tables brésiliennes (Rostagno et al., 2017) ou CVB (2018).

Il convient aussi de se poser la question de la pertinence de l'ajustement des valeurs EMA pour un bilan azoté nul. En effet, la quasi-totalité des volailles de chair ou les poules pondeuses fixent à minima 40% de l'azoté ingéré et en moyenne 60% pour les poulets de chair. De plus, ce taux de rétention est d'autant plus élevé que la teneur en azote dans l'aliment est abaissée (tableaux 2 et 3). Le modèle EMAn ne semble donc pas cohérent et représentatif pour la très grande majorité des situations de production avicole. C'est précisément pour remédier à cette situation que le modèle EMA a été proposé régulièrement (Lopez et Leeson, 2007; Abdollahi et al., 2021). La comparaison des valeurs EMA et EMAn indique qu'en toute logique, les valeurs EMA sont supérieures aux valeurs EMAn mais l'écart est nul pour les matières grasses, faible pour les céréales (2 à 4%) et il peut aller jusque 15% pour les ingrédients riches en protéines comme le tourteau de soja (tableau 4). Pour un aliment complet, cet écart avoisinera 5%. La hiérarchie entre matières premières pour leur valeur énergétique diffèrera donc dans les systèmes EMA et EMAn.

En pratique, les valeurs EMA des matières premières sont généralement mesurées sur la matière première seule pour les céréales et sur une matière première incluse dans un aliment de référence pour les autres produits riches en protéines et/ou en fibres et/ou en matières grasses. Dans ce deuxième cas, la valeur EMA de la matière première est le plus souvent calculée par différence (Noblet et al., 2022). Toutefois, cette valeur EMA est directement dépendante de l'excrétion azotée associée à la présence de la matière première dans l'aliment et donc de la quantité et la qualité des protéines de cet

aliment, relativement au besoin de l'animal. En d'autres termes, il peut exister autant de valeurs EMA pour une matière première que de situations nutritionnelles dans lesquelles elle est testée. Ceci est particulièrement important pour les sources de protéines. C'est pourquoi et comme pour le porc (Noblet et al., 2004), il serait nécessaire de standardiser les valeurs EMA (EMAs) pour un coefficient de rétention azotée proche de ce qui est observé dans les conditions pratiques pour un aliment complet. La méthode de calcul de EMAs consistant schématiquement à ajouter l'énergie de l'azote qui ne serait pas excrété à la valeur EMAn de l'aliment est décrite plus en détail par Cozannet et al. (2010) et Noblet et al. (2022). Un coefficient de rétention azotée de 60% est suggéré, au moins pour le poulet de chair; une valeur de 50% peut aussi être un compromis commun au poulet de chair et à la poule pondeuse (tableau 3). Tout en étant du même ordre de grandeur que les valeurs EMA, les valeurs EMAs sont harmonisées entre elles et surtout indépendantes des conditions expérimentales, voire des méthodes de calcul, avec lesquelles elles ont été mesurées. Comme pour EMA, l'écart entre les valeurs EMAs et EMAn varie selon la teneur en azote des matières premières (tableau 5). Enfin, sur un plan pratique, elles peuvent être calculées directement à partir des valeurs EMAn de la bibliographie ou des tables de valeurs nutritionnelles.

Les études permettant la mise au point d'un système EN pour les volailles, à savoir une ou des équations de prédiction de la valeur EN (Noblet et al., 2022), ont été peu nombreuses jusqu'aux années 2000 (Fraps, 1946; Schiemann et al., 1972; de Groote, 1974) et n'ont pas été menées avec un modèle animal représentatif du poulet de chair contemporain. Ce relatif manque de connaissances adaptées à la situation actuelle ainsi que le faible nombre d'ingrédients utilisés dans les aliments des volailles expliquent la non-utilisation d'un système EN en production avicole (Pirgozliev et Rose, 1999). Pourtant, les ingrédients deviennent plus diversifiés et plus variables et, surtout, plusieurs études réalisées au cours des 2 dernières décennies (Carré et al., 2014; Cerrate et al., 2019; Barzegar et al., 2019; Wu et al., 2019) et d'autres en cours, toutes sur le poulet de chair (ou la poule pondeuse), permettent ou permettront l'adoption d'un système EN en production avicole et son évaluation relativement aux systèmes EMAn et EMA (ou EMAs). L'analyse approfondie des derniers travaux publiés sur le poulet de chair (Noblet et al., 2022) conduit à préférer aujourd'hui les équations proposées par Wu et al. (2019), les conclusions des études de Carré et al. (2014) et Wu et al (2019) étant proches. En particulier et comme le montraient les travaux plus anciens de Schiemann et al. (1972) ou de Groote (1974), le rendement d'utilisation de l'EMA en EN est accru avec l'augmentation du taux de matières grasses dans l'aliment et diminué lorsque le taux de protéines est plus élevé (tableau 5). Enfin, les résultats comparables obtenus chez la poule pondeuse (Barzegar et al., 2019) permettent, au stade actuel des connaissances, de recommander l'application à la poule pondeuse d'un système EN mis au point chez le poulet de chair.

3. REDUCTION DE LA TENEUR EN PROTEINES DE L'ALIMENT ET EVOLUTION DES SYTEMES ENERGETIQUES

L'analyse des systèmes énergétiques susceptibles d'être utilisés pour les volailles suggère 1/ des différences importantes de hiérarchie de valeurs entre EMAn et EMA (ou EMAs) liées à la teneur en protéines de l'aliment et 2/ des rendements de transformation de l'EMA en EN liés à la fois à la teneur en protéines (effet négatif) et à la teneur en matières grasses (effet positif). Ces effets observés sur un aliment complet sont exacerbés dans le cas des matières premières ayant des teneurs extrêmes, soit en matières grasses, soit en protéines (tableau 6). Ainsi, le système EMAn, encore largement utilisé en pratique, pénalise les ingrédients riches en protéines, relativement au système EMAs qui reflète au mieux l'utilisation vraie de l'énergie sur la base des pertes fécales et urinaires. Si l'on prend ensuite en compte l'extra-chaleur liée à la transformation de l'EMAs en EN, la valeur EN de l'huile végétale est très nettement accrue alors que celle du tourteau de soja est abaissée. Au final et exprimées relativement à la valeur énergétique d'un régime conventionnel, les valeurs EMAn et EN hiérarchisent de la même façon les céréales (riches en amidon) et leurs co-produits ainsi que les produits riches en protéines. Mais les sources de matières grasses sont très pénalisées dans les systèmes EMA relativement à leur valeur EN. La comparaison des valeurs EMAs et EN indique des hiérarchies affectées à la fois par les protéines et les matières grasses. La valeur EMAs représente donc en soi un progrès modéré dans la recherche du meilleur estimateur de la valeur "vraie" représenté par la teneur en EN. Toutefois, elle constitue un passage obligé dans le calcul de la valeur EN à partir de la formule de Wu et al. (2019), la valeur EMA devant être standardisée pour une situation nutritionnelle représentative de la pratique et dans laquelle les protéines de toutes les matières premières de l'aliment sont fixées avec un rendement de 50 à 60%. Enfin, la pénalité trop forte apportée par les systèmes EMAn ou EMAs pour les sources de matières grasses justifie presqu'à elle seule l'utilisation d'un système EN en production avicole.

Les données des tableaux 2 et 3 suggèrent que la diminution de l'ingestion azotée associée à la diminution du taux de protéines de l'aliment entraine une diminution quasi identique de l'excrétion d'azote. Sur la base d'un coefficient de digestibilité iléale de l'azote inchangé et égal à 80%, la réduction de l'azote

excrété est donc liée pour au moins 80% à une moindre excrétion urinaire et traduit un catabolisme réduit des protéines de l'aliment (Liu et al., 2021). Ces données montrent aussi un coefficient de rétention azotée qui s'accroit en moyenne de 3% par diminution de 1 point de la teneur en protéines, soit une valeur EMAs de ces protéines supérieure d'environ 8 kcal par kg pour un aliment passant de 21 à 20% de protéines (200/6.25 x 0.03 x 8.2; Noblet et al., 2022). De plus, l'excrétion moindre d'acide urique permet aussi d'économiser de l'énergie nécessaire à sa synthèse; van Milgen (2021) l'estime à environ 6.2 kcal par g de N sous forme d'acide urique qui s'ajoutent à l'énergie de l'acide urique lui-même (8.2 kcal/g de N), soit environ 5 kcal (6.2 x 80%) par g de N dans l'aliment. Sur le principe, ce coût énergétique serait à attribuer à la transformation de l'EMAs en EN. Au total, ce calcul montre que 1/,comme illustré dans le tableau 6, la valeur énergétique d'un aliment ou d'une matière première sur sa base EMAs doit être adaptée au coefficient de rétention azotée de l'aliment et 2/, dans le cas précis d'un diminution de la teneur en protéines de l'aliment, le coefficient de rétention azotée s'accroit avec une valorisation supplémentaire des protéines de l'aliment, valorisation qui n'est pas prise en compte avec un système EMAn qui sous-estimerait alors l'énergie apportée par cet aliment. Ce calcul contribue à expliquer l'adiposité légèrement accrue des poulets de chair recevant des aliments à teneur réduite en protéines ou, à l'inverse, l'adiposité réduite pour les aliments avec une teneur en protéines plus élevée. Les différences de rendement d'utilisation de l'EMAs en EN liés à la réduction du taux de protéines et les variations associées des teneurs en amidon, matières grasses et fibres sont également susceptibles de contribuer à l'adiposité supérieure. Mais des travaux complémentaires sur ce sujet nous semblent nécessaires, d'autant que certains travaux ne montrent pas de réduction de la production de chaleur avec la réduction du taux de protéines (Noblet, 2015). De plus, en lien avec les différences de valeur énergétique entre matières premières selon les systèmes d'évaluation, il existe probablement des effets importants du mode d'évaluation de l'énergie des aliments sur la variation de la composition centésimale et en nutriments des aliments complets. C'est précisément l'objet de la dernière partie de ce texte.

4. IMPACT DU SYSTEME ENERGETIQUE SUR LA FORMULATION DES ALIMENTS VOLAILLES

Comme indiqué ci-dessus, il existe plusieurs systèmes ou modes d'évaluation de l'énergie des aliments pour les volailles. Par ailleurs, plusieurs éléments suggèrent la nécessité et la faisabilité d'une réduction de la teneur en protéines des aliments en supplémentant en AA essentiels. Afin d'analyser l'impact du système d'évaluation de l'énergie sur la composition des aliments lorsque la teneur en protéines est abaissée, des essais de formulation au moindre coût ont été effectués dans plusieurs contextes de teneur en protéines de l'aliment et de prix des sources majeures de protéines. Tout d'abord, un aliment de base ou de "passage" pour le poulet de chair en croissance a été défini à partir des matières premières suivantes: blé (25.0%), maïs (26.8%), tourteau de soja (23.1%), tourteau de colza (3.0%), pois (3.0%), son de blé (3.0%), drèches de maïs (5.0%), graine de soja cuite (3.2%), huile végétale (4.0%) et des AA industriels (0.60% de lysine + méthionine + thréonine). Ses teneurs en protéines et en lysine digestible sont fixées à respectivement 20.5% et 1.08%; le profil en AA essentiels relativement à la lysine respecte les valeurs habituelles (Belloir et al., 2017). Enfin, les teneurs en phosphate monocalcique, carbonate de calcium, sel, bicarbonate de sodium et premix de cette formule et de toutes les formules testées sont fixes (total: 3.5%) et permettent de couvrir les besoins en minéraux et vitamines dans toutes les situations. Les valeurs EMAn, EMAs et EN de cet aliment de "passage" sont 2850, 3012 et 2275 kcal/kg et sa teneur en matières grasses est 7.1%. Les caractéristiques chimiques et les valeurs nutritionnelles (énergie et AA) des matières premières choisies sont issues des Tables INRAE-CIRAD-AFZ (2017). Pour définir les prix de référence des matières premières, la moyenne des valeurs mensuelles rapportées dans la "Note de conjoncture aliment" de l'IFIP sur janvier 2020-septembre 2021 a été retenue. Des essais de formulation au moindre coût ont alors été conduits à partir de toutes les matières premières utilisées dans l'aliment de "passage" (plus tryptophane et valine libres) pour, d'une part, définir un aliment de référence dans chaque système énergétique (EMA, EMAs et EN) ayant les caractéristiques nutritionnelles de l'aliment de "passage" et, d'autre part, évaluer l'impact du taux de protéines de l'aliment (19.0 à 22.5%; pas de 0.5%), du prix des sources de protéines (-30, -15, +15 et + 30% du prix de référence pour les tourteaux de soja et colza et la graine de soja) pour 2 taux de protéines extrêmes, de la concentration en énergie de l'aliment (-150 à +150 kcal EMAn/kg, -160 à +160 kcal EMAs et -120 à +120 kcal EN, relativement au régime de référence; pas de 50 kcal d'EMAn) et du prix des sources de matières grasses (-50, -25, +25 et +50% du prix de référence; pour huile végétale et graine de soja) pour 2 concentrations énergétiques opposées. Au total, 31 formules dont la formule de référence ont été calculées pour chaque système. Dans ces essais, le rapport lysine digestible sur EMAn ou EMAs ou EN est constant dans chaque système (et au-dessus du besoin), l'équilibre entre les AA essentiels est préservé et le prix du blé, du maïs, des drèches de maïs, du son de blé, des minéraux et des AA de synthèse sont considérés comme constants. Des contraintes de maxi d'incorporation pour quelques matières premières (8% d'huile, 10% de

drèches ou son de blé), de mini pour le blé et le maïs (10%) ou de maxi de certains nutriments (11% de matières grasses, 6% de cellulose brute) ont été introduites. Une sélection et une simplification des résultats est présentée au tableau 7.

Probablement en lien avec le prix de référence retenu et la concurrence directe avec le tourteau de soja et l'huile végétale, la graine de soja n'entre pas dans les formules testées. Le pois est aussi systématiquement exclu. Le tourteau de colza et le son de blé entrent à des niveaux très faibles en moyenne. Ainsi, pour les 31 formules testées, le tourteau de soja représente 100% des tourteaux dans les systèmes EMAn et EMAs et 98% dans le système EN. De même, le son de blé ne contribue qu'à 6% des co-produits pour l'ensemble des formules et des systèmes. Enfin, les 2 céréales sont introduites à des taux comparables dans l'ensemble des formules, même si on assiste à des phénomènes de bascule entre les 2 céréales en fonction des contraintes. La comparaison des formules selon les systèmes ne met pas en évidence d'écarts importants de taux d'introduction des groupes de matières premières entre systèmes. Sur l'ensemble des 31 formules, on note toutefois un niveau d'introduction légèrement plus élevé d'huile végétale et de co-produits et plus faible de céréales avec le système EN qu'avec les systèmes EMAn et EMAs. Ce résultat est en accord avec la valeur relative des matières grasses plus élevée dans le système EN. Il faut aussi noter que le protocole des essais de formulation impliquait un niveau bloqué de protéines avec, pour conséquence, une atténuation probable de la variabilité des formules en fonction du système d'évaluation de l'énergie. Des essais de formulation complémentaires (résultats non inclus dans le tableau 7) réalisés en fixant un maxi de teneur en protéines (20.5%) mettent en évidence que le coût est minimisé à des teneurs en protéines de 18.8% dans les systèmes EMAn, EMAs et EN; ce minimum n'est pas modifié dans le système EMAn et s'accroit à 19.7 et 19.9% dans les systèmes EMAs et EN aux prix de protéines les plus faibles. A l'inverse, le taux de protéines diminue (16.4%) lorsque les protéines sont chères et dans les 3 systèmes. Il faut enfin noter que, sur l'ensemble des formules, les aliments formulés avec les systèmes EMAn et EMAs ont une valeur EN plus faible (-0.4%), sans que le coût par Mcal d'EN soit affecté (0.135€/Mcal d'EN).

L'analyse plus approfondie de l'effet du taux de protéines montre qu'avec son abaissement de 22.5 à 19.0 et quel que soit le système énergétique utilisé, on diminue les niveaux d'incorporation des tourteaux et d'huile végétale et on accroît fortement les niveaux d'incorporation des céréales et des acides aminés. Toutefois, aux taux de protéines les plus faibles, le niveau de tourteaux s'accroit et celui des co-produits diminue afin de couvrir les contraintes en acides aminés essentiels non disponibles sous forme libre (arginine, par exemple). Il faut aussi noter que seules la lysine, la méthionine et la thréonine sont incluses à des niveaux significatifs, la valine n'entrant qu'aux 2 taux de protéines les plus bas. Enfin, nos résultats montrent que la formulation sur une base EMAn conduit à des aliments ayant une teneur en EN qui diminue lorsque la teneur en protéines diminue (-15 kcal/kg entre les teneurs extrêmes) alors qu'elle augmente lorsque les aliments sont formulés avec le système EMAs (+10 kcal/kg entre les extrêmes). Enfin, le coût matières premières des régimes s'abaisse avec la réduction de la teneur en protéines sans qu'il y ait de différence entre systèmes du coût de la Mcal d'EN.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'analyse des données de la bibliographie sur les effets de la réduction de la teneur en protéines des aliments du poulet de chair indique la faisabilité technique si elle est associée à une supplémentation en AA essentiels afin que leurs apports dans l'aliment soient maintenus. Toutefois, l'ampleur de la diminution est limitée par l'indisponibilité d'AA essentiels secondaires mais surtout par une tendance à l'accroissement de l'adiposité de l'animal et une détérioration concomitante de l'efficacité alimentaire. Outre la nécessité de poursuivre des travaux sur les besoins en AA essentiels et non-essentiels chez le poulet, le mode d'évaluation de l'énergie pourrait représenter un facteur limitant dans la mise en œuvre des aliments à teneur réduite en protéines. L'analyse des systèmes d'évaluation de l'énergie pour les volailles (EMA et EN) montre que la hiérarchie entre matières premières est affectée par le mode d'évaluation qui touche, d'une part, les sources de protéines et, d'autre part, les sources de matières grasses, ces dernières étant mieux valorisées dans le système EN. Cependant et de façon surprenante et inexpliquée, des essais de formulation réalisés avec des hypothèses de prix et des contraintes nutritionnelles représentatives des conditions pratiques ne permettent pas de mettre en évidence l'impact sur la composition des régimes de ces différences de hiérarchie entre matières premières selon le système énergétique, notamment lorsque la teneur en protéines est abaissée. Des recherches sont alors nécessaires pour proposer un système énergétique pour les volailles qui soit robuste et fiable et qui devrait être basé sur la valeur EN des aliments, valeur qui est en principe le meilleur estimateur de la valeur énergétique "vraie" des aliments. Une attention particulière sera à apporter à l'effet d'un abaissement progressif de la teneur en protéines et d'une supplémentation de plus en plus élevée en AA industriels, dans un contexte de réduction des rejets azotés dans les excréta et d'amélioration de la durabilité des élevages avicoles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdollahi R., Wiltafsky-Martin M., Ravindran V., 2021. Animals, (11), 2174, doi: org/10.3390/ani11082174.

Barekatain R., Romero L., Sorbara J.O., Cowieson A., 2021. Anim. Nutr., (7), 430-439

Barzegar S., Wu. S., Noblet J., Choct M., Swick R., 2019. Poult. Sci., (98), 5746-5758

Belloir P., Méda B., Lambert W., Corrent E., Juin H., Lessire M., Tesseraud S., 2017. Animal, (11), 1881-1889.

Bourdillon A., Carre B., Conan L., Duperray J., Huyghebaert G., Leclercq B., Lessire M., McNab J., Wiseman J., 1990. Br. Poult. Sci., (31), 557–565

Carré B., Lessire M., Juin H., 2014. Animal, (8), 1395-1401.

Cappelaere L., Le Cour Grandmaison J., Martin N., Lambert W., 2021. Front. Vet. Sci., (8), 689259, doi: 10.3389/fvets.2021.689259

Cerrate S., Ekmay R., England J., Coon C., 2019. Poult. Sci., (98), 3994-4007

Chrystal P., Moss A., Khoddami A., Naranjo V., Selle P., Liu S., 2020. Poultr. Sci., (99), 505-516

Cozannet P., Lessire M., Gady C., Metayer J., Primot Y., Skiba F., Noblet J., 2010. Poult. Sci., (89), 2230-2241.

CVB, 2018. CVB Feed Table 2018: Chemical composition and nutritional values of feedstuffs. Wageningen, The Netherlands.

De Groote, 1974. Br. Poult. Sci., (15), 75-95

Fraps G.S., 1946. Composition and productive energy of poultry feeds and rations. College Station: Texas Agricultural Experiment Station Bulletin

INRAE-CIRAD-AFZ, 2019. INRAE-CIRAD-AFZ Feed tables: composition and nutritive values of feeds for cattle, sheep, goats, pigs, poultry, rabbits, horses and salmonid. https://feedtables.com/

Kidd M., Maynard C., Mullenix G., 2021. J. Anim. Sci. Biotech., (12), 45

Lemme A., Hiller P., Klahsen M., Taube V., Stegemann J., Simon I., 2019. J. Appl. Poult. Res., (28), 867-880.

Liu S., Macelline S., Chrystal P., Selle P., 2021. J. Anim. Sci. Biotech., (12), 20

Mateos G., Camara L., Fondevila G., Lazaro R., 2019. J. Appl. Poult. Res., (28), 506-525

Meda B., Belloir P., Narcy A., Wilfart A., 2019. Presented at 22nd European symposium on Poultry Nutrition, Gdansk, Pologne, 12 pages

Noblet J., Sève B., Jondreville C., 2004. In: Tables of composition and nutritional value of feed materials: pigs, poultry, cattle, sheep, goats, rabbits, horses, fish (Sauvant D., Perez J.M., Tran G. edit.)., Wageningen, The Netherlands and Paris, France: Wageningen Academic Publishers and INRA, pp. 25-35

Noblet J., 2015. In: 20th European Symposium on Poultry Nutrition, 24-27 August 2015, Prague, pp. 48-56.

Noblet J., Wu S.B., Choct M., 2022. Anim. Nutr. (8), in press, doi: org/10.1016/j.aninu.2021.06.015

Ospina-Rojas I.C., Murakami A.E., Duarte C.R.A., Nascimento G.R., Garcia E.R.M., Sakamoto M.I., Nunes R.V., 2017. Poult. Sci., (96), 914-922

Pirgozliev V, Rose S., 1999. Worlds Poult. Sci. J., (55), 23-36.

Rostagno H., Albino L., Hannas M., Donzele J., Sakomura N., Perazzo F., Saraiva A., Teixeira de Abreu M., Rodrigues P., de Oliveira R., 2017. In: Brazilian tables for poultry and swine: Feedstuff composition and nutritional requirements. 4th ed., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil

Star L., Tesseraud S., van Tol M., Minussi I., Corrent E., Lambert W., 2021. Anim. Nutr., (7), 472-480

Schiemann R., Nehring K., Hoffmann L., Jentsch W., Chudy A., 1972. In: Energetische futterbewertung und energienormen. Berlin, Germany: VEB Deutscher Landwirtschatsverlag

Sibbald I., 1982. Can. J. Anim. Sci., (62), 983-1048.

Tables INRAE-CIRAD-AFZ, 2017. https://feedtables.com/

Van Milgen J., 2021. Animal, (15), 100213

Wu S.B., Swick R.A., Noblet J., Rodgers N., Cadogan D., Choct M., 2019. Poult. Sci., (98), 1222-1234

Wu S.B., Choct M., Pesti G., 2020. Poult. Sci. (99), 385-406

Tableau 1. Influence d'une réduction de la teneur en protéines de l'aliment sur les performances du poulet de chair (METEX NOOVISTAGO, communication personnelle)[1]

Critère	Variation, % par 1% de réduction de MAT	Niveau de signification
Azote excrété[2]	-8	-
Ingestion d'aliment	+0.80	0.001
Ingestion d'EMAn	+0.71	0.007
Gain de poids	0	0.43
Indice de consommation	+0.60	0.001
Gras abdominal	+4.9	0.001

[1] Résultats d'une méta-analyse portant sur 28 expériences réalisées sur le poulet de chair entre 14 et 35 jours d'âge; exprimés en % du résultat obtenu avec l'aliment "témoin" de chaque essai contenant le taux le plus élevé en protéines; les apports d'acides aminés essentiels sont couverts pour tous les aliments de chaque étude; les valeurs EMAn des aliments sont recalculées à partir de leur composition centésimale et des valeurs EMAn matières premières des Tables INRAE-CIRAD-AFZ (2019)
[2] Données moyennes de la bibliographie (Cappelaere et al., 2021)

Tableau 2. Influence de la teneur en protéines de l'aliment sur le bilan azoté chez le poulet entre 21 et 35 jours d'âge (adapté de Belloir et al., 2017)[1]

Teneur en protéines aliment, %	19	18	17	16	15
Aliment ingéré, g	2430	2477	2472	2459	2528
Bilan azoté, g					
Ingéré	73.9	71.3	67.2	63.0	60.7
Excrété	31.0	27.9	23.9	21.1	17.8
Fixé	42.9	43.4	43.3	41.9	42.9
Coefficient de rétention de l'azote, %	58	61	64	66	70

[1] La quantité d'azote fixé est estimée à partir du gain de poids vif et d'une teneur en azote du gain de poids vif de 29 g par kg

Tableau 3. Influence de la teneur en protéines de l'aliment sur le bilan azoté chez le poulet en croissance et la poule pondeuse

Stade physiologique	Poulet en croissance[1]		Poule pondeuse[2]	
MAT aliment, % MS	21.2	25.1	16.9	22.1
Poids vif, g	1650	1680	2033	2026
Aliment ingéré, g MS/j	150	154	90	91
Bilan azoté, g/j/animal				
Ingéré	5.1	6.2	2.5	3.2
Fixé[3]	3.4	3.6	1.2	1.2
Coefficient de rétention de l'azote, %	66	59	49	38

[1] A partir de Wu et al. (2019) chez des poulets de 25-28 jours d'âge; moyenne de 8 aliments (8 observations par aliment) pour chacun des niveaux d'apports de protéines.
[2] A partir de Barzegar et al. (2019) chez des poules pondeuses; moyenne de 9 et 7 aliments (8 observations par aliment) pour respectivement les niveaux bas et haut de protéines; N fixé chez la poule pondeuse inclut les quantités fixées au niveau de l'œuf celles fixées ou mobilisées au niveau corporel
[3] La quantité d'azote fixé est la différence entre la quantité d'azote ingérée et celle mesurée dans les excréta

Tableau 4. Valeurs EMA et EMAn de quelques matières premières pour le poulet de chair[1]

Matière premières	n	Rétention azotée %	EMA MJ/kg	EMAn MJ/kg	EMAn % EMA
Céréales	6	42.1	14.48	14.19	98.0
Tourteau de soja	28	46.5	9.32	8.07	86.5
Graines de soja	16	45.8	13.31	12.39	93.4
Tourteau de colza	9	49.6	8.29	7.42	89.6
DDGS de maïs	9	51.9	12.16	11.33	93.2

[1] A partir de Abdollahi et al. (2021). Mesures réalisées sur des poulets de 25-28 jours par collecte totale des excréta: mesure directe pour les céréales (blé, orge, maïs et sorgho) et mesure par différence pour les sources de protéines. Pour chaque matière première, il s'agit de plusieurs échantillons de la matière première (céréales et tourteau de soja) ou d'un seul échantillon ayant subi différents traitements hydro-thermiques (graine de soja, tourteau de colza, DDGS).

Tableau 5. Prédiction du rendement de l'énergie métabolisable (EMA) en énergie nette (EN) et de la teneur en EN des aliments chez le poulet en croissance (à partir de Wu et al., 2019; 135 observations)

Equation	ETR
EN/EMA, % = 79.2 – 0.26 x MAT + 0.26 x MG	1.50
EN, MJ/kg MS = 0.781 x EMA – 0.028 x MAT + 0.029 x MG	0.21

Tableau 6. Valeur énergétique pour le poulet de quelques matières premières selon le système d'évaluation[1]

	Valeurs énergétiques				EMAn,	EN60,
	EB	EMAn	EMA60	EN60	%EMA60	%EMA60
Régime de référence, kcal/kg[2]	4136	2939	3087	2335	95.2	76
Valeur énergétique relative, %[3]						
Huile végétale	227	306	292	339	100.0	88
Blé	95	101	99	99	97.1	76
Maïs	97	109	106	109	98.1	77
Son de blé	98	55	57	55	92.9	73
Tourteau de soja	102	77	85	75	85.8	66

[1] Données énergie brute (EB) et EMA pour un bilan azoté nul (EMAn) selon les Tables INRAE-CIRAD-AFZ (2019); EMA60 est calculé à partir de EMAn et d'un bilan azoté égal à 60% de l'azote de l'aliment (Cozannet et al., 2010; Noblet et al., 2022); EN60 est calculé selon l'équation de Wu et al. (2019) (tableau 5) avec EMA60 comme estimateur de EMA

[2] Régime contenant 31% de blé, 31% de maïs, 6% de son de blé, 4% d'huile de soja, 25% de tourteau de soja et 3% de minéraux et vitamines (CMV); les teneurs en matière sèche des matières premières sont de 100% pour le CMV et l'huile et 90% pour les autres matières premières

[3] Valeur énergétique en % de la valeur énergétique du régime de référence ; toutes les valeurs énergétiques sont exprimées relativement au produit frais et pour leurs teneurs en matière sèche retenues pour le régime

Tableau 7. Influence du système énergétique sur les résultats de la formulation d'un aliment croissance pour le poulet de chair; interactions avec la teneur en protéines, le prix des protéines et la concentration en énergie

			Energie, kcal/kg			Ingrédients, %[2]					Coût
Système	Régime[1]	MAT,%	EMAn	EMAs	EN	Cér	Tourtx	CPs	Huile	AA	€/T
EMAn	Er/Pr/Tr/Hr	20.5	2850	3008	2264	57.8	24.5	10.0	3.5	0.70	305.0
	Er/P-/Tr/Hr	19.0	2850	3001	2257	64.5	27.3	2.0	2.0	0.76	298.5
	Er/P+/Tr/Hr	22.0	2850	3024	2272	52.9	29.1	10.0	4.1	0.48	314.4
	Er/P-/T+/Hr	19.0	2850	3001	2257	66.1	27.2	0.0	2.4	0.78	331.3
	Er/P-/T-/Hr	19.0	2850	3000	2255	65.4	28.4	0.0	2.0	0.73	264.9
	E-/Pr/Tr/Hr	19.8	2750	2907	2173	61.6	22.9	10.0	1.2	0.67	286.4
	E+/Pr/Tr/Hr	21.2	2950	3118	2364	53.5	26.9	10.0	5.5	0.70	323.6
	n=31[3]	*20.6*	*2850*	*3014*	*2267*	*57.3*	*27.1*	*8.2*	*3.3*	*0.63*	*305.3*
EMAs	Er/Pr/Tr/Hr	20.5	2850	3012	2268	57.8	24.5	10.0	3.5	0.70	304.9
	Er/P-/Tr/Hr	19.0	2861	3012	2267	64.2	27.3	2.0	2.2	0.76	300.0
	Er/P+/Tr/Hr	22.0	2838	3012	2260	53.1	29.0	10.0	3.9	0.48	312.8
	Er/P-/T+/Hr	19.0	2861	3012	2267	65.9	27.2	0.0	2.6	0.78	332.8
	Er/P-/T-/Hr	19.7	2856	3012	2262	63.0	30.5	0.0	2.4	0.60	266.2
	E-/Pr/Tr/Hr	19.8	2749	2906	2173	61.7	22.9	10.0	1.2	0.67	286.3
	E+/Pr/Tr/Hr	21.2	2950	3118	2363	53.5	26.9	10.0	5.5	0.70	323.6
	n=31[3]	*20.6*	*2849*	*3013*	*2266*	*57.2*	*27.1*	*8.2*	*3.3*	*0.63*	*305.2*
EN	Er/Pr/Tr/Hr	20.5	2857	3019	2275	57.7	24.5	10.0	3.6	0.70	305.8
	Er/P-/Tr/Hr	19.0	2870	3020	2275	64.0	27.4	2.0	2.3	0.76	301.0
	Er/P+/Tr/Hr	22.0	2854	3028	2275	52.8	29.1	10.0	4.1	0.48	314.9
	Er/P-/T+/Hr	19.0	2869	3020	2275	65.8	27.3	0.0	2.7	0.78	333.9
	Er/P-/T-/Hr	19.9	2862	3019	2275	57.6	25.7	10.0	2.5	0.70	267.3
	E-/Pr/Tr/Hr	19.8	2773	2930	2195	61.2	23.0	10.0	1.7	0.67	289.4
	E+/Pr/Tr/Hr	21.2	2941	3109	2355	53.7	26.8	10.0	5.3	0.70	322.4
	n=31[3]	*20.6*	*2857*	*3022*	*2275*	*56.2*	*27.1*	*9.0*	*3.5*	*0.63*	*306.5*

[1] Er, E- et E+ pour concentrations en énergie de référence, réduite et accrue; Pr, P- et P+ pour teneur en énergie de référence, réduite et accrue; Tr, T- et T+ pour prix de référence, réduit et élevé des tourteaux; Hr pour prix de référence de l'huile [2] Cér: blé + maïs, Tourtx: tourteaux de soja et colza, CPs: drèches de maïs + son de blé

[3] Ensemble des formules testées (voir texte)

SESSION

DURABILITE – ENVIRONNEMENT

SESSION

DURABILITE – ENVIRONNEMENT

Communications orales

AUTONOMIE PROTEIQUE EN AVICULTURE : UN JEU DE RÔLE POUR COMPRENDRE LES RELATIONS ENTRE SECTEURS VEGETAL ET AVICOLE

Méda Bertrand[1], Désolé Mathieu[2], Vallière Anne[1], Dusart Léonie[3], Bouvarel Isabelle[3]

[1]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France
[2] ISARA Lyon, 69007 Lyon, France
[3] Institut Technique de l'Aviculture, 37380 Nouzilly, France

bertrand.meda@inrae.fr

RÉSUMÉ

L'autonomie protéique des filières avicoles françaises est d'environ 40%, en raison d'une importation importante de soja, particulièrement intéressant sur pour ses apports protéiques. L'augmentation de la production française de matières premières riches en protéines (MPRP) requiert une plus grande coordination entre les secteurs végétal et animal. Un « jeu de rôle » a ainsi été développé afin d'aider les acteurs à prendre conscience des leviers susceptibles d'être activés pour atteindre cet objectif. Cinq maillons « clés » ont été considérés : agriculteurs (AGRI), organismes de stockage de grains (OS), transformateurs de grains (TG), fabricants d'aliments du bétail et organisations de production (FAB-OP), et enfin, distributeurs de viande de volaille (DISTRI). Pour chaque rôle, des profils fictifs réalistes ont été créés (nom, dimensionnement de l'entreprise...) et un calculateur spécifique de chaque rôle a été développé, pour quantifier les besoins et évaluer les conséquences économiques de leurs décisions (ex. marge des AGRI, outil de formulation pour les FAB). Des professionnels ont ensuite été invités à jouer leur propre rôle lors d'une session de « jeu » les mettant en situation. Le DISTRI a d'abord commandé à deux FAB-OP un tonnage de viande de poulets nourris avec des aliments utilisant des matières premières végétales 100% françaises. Les « joueurs » étaient ensuite libres d'interagir et de décider. Au cours du jeu, seules des interactions « classiques » vendeur/client, entre deux opérateurs, ont été observées et aucune contractualisation sur le long terme n'a été mise en place. Pour répondre à la demande du DISTRI, les FAB-OP ont dû employer de fortes quantités de tourteaux de colza et de tournesol, impliquant *in fine* pour les AGRI de modifier leur assolement. Cette mise en situation a permis aux opérateurs de mieux prendre conscience des contraintes des autres maillons et des effets, en amont et/ou en aval, de leurs propres décisions. Enfin, tous les participants se sont accordés sur la nécessité d'efforts organisationnels pour mieux considérer cette diversité de contraintes et de points de vue, dans des stratégies collectives de production de MPRP. L'approche décrite ici constitue donc un outil approprié d'animation de filières et un support pour le dialogue entre opérateurs.

ABSTRACT

Protein self-sufficiency in poultry production: A role-playing game to understand the links between crop and poultry sectors

In France, protein self-sufficiency of the poultry sector industry is about 40%, due to a significant import of soybean, which is particularly interesting for its crude protein content. Increasing French production of protein-rich feedstuffs (PRF) requires greater coordination between the crop and poultry sectors. To help stakeholders become aware of the levers that can be activated, a "role-playing game" was developed. Five key roles were considered: farmers (FARM), grain storage organizations (SO), grain processors (GP), feed producers and poultry production organizations (FP-PO), and finally, poultry meat retailers (RETAIL). For each role, realistic fictitious profiles were created (name, company size...) and a specific calculator for each role was developed, to quantify the needs and evaluate the economic consequences (e.g. gross margin for FARM, formulation tool for FP-PO). Professionals were then invited to play their own role during a "game" session that put them in a situation. The RETAIL first ordered from two FP-POs a volume of chicken meat fed only with French vegetal feedstuffs. The "players" were then free to interact and decide. During the game, only "classic" vendor/customer interactions, between two operators, were observed and no long-term contract was signed. To meet the RETAIL's demand, the two FP-POs had to use large quantities of rapeseed and sunflower meals, which ultimately meant that the FARMs had to modify their crop rotation. This situation allowed the operators to become more aware of the constraints of the other links and the effects, upstream and/or downstream, of their own decisions. Finally, all the participants agreed on the need for organizational efforts to better consider this diversity of constraints and points of view in collective PRF production strategies. The approach described here is therefore an appropriate tool for animating the sector and a support for improved dialogue between operators.

INTRODUCTION

En France, l'autonomie protéique des filières avicoles est estimée à environ 40 % (Pampouille *et al.*, 2021), en raison d'une importation importante de tourteau de soja produit en Amérique du Sud. Cette matière première (MP) bien que très intéressante pour sa teneur élevée en protéines, pose de nombreuses questions d'ordre environnemental (ex. déforestation, non-bouclage du cycle de l'azote en France) et économique (ex. sensibilité du secteur de l'alimentation animale aux variations du cours mondial du soja).

Dans ce contexte, l'amélioration de l'autonomie protéique passe par l'augmentation de la production et de l'utilisation de MP riches en protéines produites en France (MPRP). En effet, d'autres MPRP peuvent être produites en France (protéagineux, tourteaux de colza/tournesol), mais il existe des verrous concernant leur utilisation notamment liés leur prix et leur disponibilité (faibles volumes ; compétition avec d'autres filières animales voire l'alimentation humaine ; Recoules *et al.*, 2016). Aussi, une plus grande (et meilleure) coordination entre les secteurs végétal et animal est nécessaire.

L'objectif de cette étude était donc de mettre en place une démarche permettant aux opérateurs de mieux prendre conscience des relations existantes entre secteurs végétal et animal, afin de mieux comprendre les verrous et identifier des pistes pour les lever, dans une recherche d'autonomie protéique. Pour cela, une approche de « jeu sérieux » a été choisie (Ryschawy *et al.*, 2021). Un « jeu de rôle » permettant de mettre en situation des opérateurs des filières végétales et de l'aviculture, a été développé puis testé lors d'une session de jeu organisée avec des professionnels.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Identification des maillons « clés » au sein des filières végétale et avicole

A l'image des filières animales, les filières végétales sont composées d'un grand nombre de maillons depuis la sélection variétale et la production des intrants de cultures (semences, engrais) jusqu'à la valorisation des grains (agroalimentaire). Cinq maillons clés ont été retenus pour la réalisation d'un jeu de rôle (Figure 1a) :

3 dans le secteur végétal : les agriculteurs (**AGRI**) qui produisent les graines qui seront utilisées (in)directement en alimentation animale ; les organismes stockeurs (**OS**) qui collectent et revendent les graines ; les transformateurs de graines (**TG** ; ex. triturateurs) qui produisent des tourteaux d'oléoprotéagineux et des graines décortiquées, à haute valeur nutritionnelle pour les volailles.

2 dans le secteur animal : les fabricants d'aliment (FAB) regroupés avec les organisations de production (OP) pour représenter le maillon « élevage » (**FAB**/**OP**) dans le jeu de rôle et les distributeurs (**DISTRI**) qui commercialisent la viande de volaille.

1.2. Définition des rôles

Pour chaque rôle, des profils fictifs mais réalistes (cohérence des données numériques) ont été créés. Chaque profil contenait un minimum d'informations nécessaires à chaque joueur pour se mettre en situation, comme par exemple son nom ou les caractéristiques de sa société (nom, performances techniques et économiques moyennes…) et certaines données techniques (ex. assolement type pour les AGRI, rendements associés à la transformation des graines pour les TG…) (Tableau 1).

Concernant les flux de MP possibles entre maillons, un total de 10 cultures (4 céréales, 3 oléoprotéagineux et 3 protéagineux) a été considéré pour les maillons OS et AGRI, tandis que le TG pouvait produire jusqu'à 7 tourteaux d'oléoprotéagineux différents et du lupin décortiqué (Figure 1b).

1.3. Développement d'un calculateur par rôle

En plus de ces informations « de base », un calculateur permettant d'évaluer les besoins (ex. besoins en graines pour le TG) et les performances économiques (marge brute), a été développé (sous Excel®) pour chaque maillon afin d'aider les joueurs à prendre leurs décisions (Tableau 1). Le paramétrage des calculateurs s'est fait à l'aide de données issues de la littérature (ex. Quinsac *et al.* (2019) pour les rendements de transformation des graines de colza/tournesol ; Danel *et al.* (2019) pour les valeurs nutritionnelles de tourteaux de colza/tournesol associés à différents procédés technologiques), de l'expertise des partenaires du projet VOCALIM (Itavi, Arvalis, Terres Inovia et Terres Univia) ou de professionnels du végétal consultés durant la phase de développement. Chaque calculateur reposait sur :

- des données pré-paramétrées et constantes durant le jeu (ex. coûts liés à la transformation des graines pour le TG) ou variables (ex. rendements des cultures de l'AGRI variables selon l'année) ;
- des données saisies par le joueur à la suite d'une prise de décision (ex. vente) ou d'une information recueillie auprès d'un autre joueur (ex. TG recueillant les besoins en tourteaux du FAB).

Les principales fonctionnalités du calculateur par maillon permettaient (Tableau 1) :

AGRI : d'évaluer les marges brutes théoriques et réelles en fonction de l'assolement et des rendements/prix de vente théoriques/réels et des charges par culture ;

OS et TG : d'évaluer les marges brutes théoriques et réelles en fonction des achats/ventes et des prix d'achat/vente théoriques/réels et de coûts spécifiques (ex. coûts de stockage ou de transformation) ;

FAB/OP : de formuler des aliments Démarrage, Croissance et Finition pour trois gammes (2 gammes Standard + 1 gamme Label) à l'aide d'une matrice de formulation (*i.e.* valeurs nutritionnelles et prix de 41 matières premières) ; évaluer les marges brutes liées à la production de filets/cuisses de poulets Standard

selon le prix d'achat de l'aliment, des objectifs de marge et des prix de vente des découpes ;
DISTRI : d'évaluer les marges brutes liées à la vente de découpe de poulets en fonction des prix d'achat et de vente des découpes (vente avec ou sans mention valorisante *« Alimentation à base de matières premières végétales 100% françaises »*).

1.4. Organisation d'une session de jeu

Une session de jeu avec des professionnels des secteurs végétal et avicole a été organisée en novembre 2018. Un total de 9 professionnels a été invité à participer à cette session et à se mettre dans une situation « réaliste » qu'ils pourraient rencontrer dans leur activité professionnelle : 3 AGRI, 2 OS, 1 TG, 2 FAB et 1 DISTRI. Un partenaire du projet VOCALIM a joué le rôle d'un 4ème AGRI. Pour le maillon FAB/OP, deux nutritionnistes ont été choisis pour qu'ils soient capables de formuler des aliments à l'aide du calculateur développé.
Deux groupes ont été constitués avec 2 AGRI, 1 OS, 1 FAB/OP. Le TG présent a accepté de « doubler » son rôle pour que chaque groupe ait un TG (décisions prises indépendamment dans chaque groupe). Le DISTRI quant à lui, a finalement choisi de mettre en concurrence les deux groupes de joueurs.
La session a été animée par deux « maitres du jeu » qui donnaient les instructions au fur et à mesure des 5 tours de jeu (1 tour = 1 année), secondés par des partenaires du projet qui devaient pouvoir aider ponctuellement les joueurs à l'utilisation du calculateur et également consigner le maximum d'informations sur la session de jeu ainsi que sur le comportement des joueurs. Enfin, juste après la session de jeu, un temps d'échanges a été organisé.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Déroulement de de la session de jeu

La session de jeu a été lancée via la commande par le DISTRI auprès des deux FAB/OP d'un volume de découpes de poulets nourris avec des aliments produits avec des MP végétales 100% françaises d'ici la fin du troisième tour de jeu (soit 3 ans). Les 2 FAB/OP devaient ensuite s'organiser pour répondre à cette nouvelle demande. Ils ont ensuite lancé de premiers essais de formulation avant de rapidement s'entendre sur une répartition 50/50 des volumes à produire, pour avoir une marge de manœuvre plus élevée, mais sans entente sur le prix de vente.
Dans le même temps, les maillons AGRI, OS et TG commençaient la planification de leur activité pour le premier tour de jeu (ex. choix d'un assolement « de base » par les AGRI). Rapidement, des échanges entre les différents maillons ont été observées, mais toujours entre seulement deux maillons (AGRI-OS, OS-TG, OS-FAB, TG-FAB). Ces échanges se sont principalement déroulés sous la forme de négociation volumes/prix pour la vente/l'achat de graines en fonction des stratégies propres de chaque joueur.
En ce qui concerne les négociations entre les maillons OS et AGRI, les interactions se sont faites en deux temps dans un des groupes : i) une réunion commune avec les 2 AGRI et l'OS pour définir les besoins de mise en culture par les AGRI, en lien avec les besoins de l'OS (demandes des TG et FAB). Ceci a eu pour conséquence de conduire les AGRI à ajuster leur assolement prévisionnel pour répondre à la demande de l'OS. Puis lors d'une seconde phase, après récolte, l'OS a négocié individuellement (*i.e.* un AGRI à la fois) les volumes et les prix. Cependant, alors que les joueurs en avaient la possibilité, aucun contrat sur plusieurs années n'a été signé.
A la fin de la session de jeu (2 tours de jeu au lieu des 5 initialement prévus), un seul FAB/OP a réussi à fournir le volume de découpes qu'il s'était fixé comme objectif (*i.e.* 50% de la demande du DISTRI). En effet, dans l'autre groupe, les volumes disponibles de tourteaux de tournesol et soja français n'étaient pas suffisants pour permettre de produire le tonnage d'aliments « 100% France » nécessaires pour répondre à la demande du DISTRI.

2.2. Retour d'expériences/échanges après la session

Un premier tour table a permis de recueillir les réactions « à chaud » des participants sur le déroulé de la session de jeu et leur expérience. Tous les participants ont salué l'intérêt de l'exercice pour se confronter à une mise en situation jugée cohérente et réaliste avec d'autres opérateurs, dont certains qui sont peu/pas en interaction sur le terrain (ex. AGRI et DISTRI). Les participants ont également confirmé l'intérêt de l'exercice pour mieux comprendre le fonctionnement des autres maillons (règles de décisions, contraintes), mieux appréhender les conséquences en amont et/ou en aval de leurs propres décisions, et également partager des connaissances (Martin *et al.*, 2011 ; Ryschawy *et al.*, 2021).
Les professionnels ont ensuite été invités à expliciter leur(s) stratégie(s)/comportement(s) durant le jeu. Par exemple, le DISTRI a appliqué une stratégie « classique » de mise en concurrence de deux FAB/OP tandis que ces deux derniers ont opté pour une stratégie moins conventionnelle en se partageant les volumes pour répondre à une demande compliquée, en termes de surcoûts potentiels. Le TG a confié avoir profité du jeu pour en « tester les limites » en orientant ses choix dans un groupe vers une stratégie maximisant l'utilisation du colza, et dans l'autre groupe, vers une stratégie plus diversifiée (tournesol, colza, soja…). Ceci confirme donc l'intérêt des « jeux sérieux » pour aider des opérateurs à s'approprier de nouvelles problématiques et à mieux comprendre le fonctionnement d'un système socio-économique, ici deux filières en interaction (Martin *et al.*, 2011 ; Ryschawy *et al.*, 2021).

2.3. Enjeux liés à l'autonomie protéique en France

Les animateurs ont ensuite orienté les échanges entre les participants sur trois points :

les différences de « temporalité » entre maillons : les participants ont évoqué les différences de temporalité entre l'amont (AGRI et OS), qui raisonne à l'année voire sur plusieurs années (rotation), et l'aval (FAB, TG) qui raisonne à la semaine ou au mois. Cette différence est un verrou d'autant plus difficile à lever (organisation, anticipation) quand les opérateurs doivent faire face à des demandes « soudaines » des DISTRI qui attendent des réponses rapidement (ex. nouveau cahier des charges).

la contractualisation et l'approvisionnement en MPRP : les participants ont évoqué la difficulté, en pratique, de contractualiser sur le moyen/long terme pour « sécuriser » leurs approvisionnements en MPRP, notamment pour des raisons temporelles (cf. point précédent) ou techniques (ex. forte incertitude sur les rendements pour certaines cultures).

l'organisation et la coopération entre filières : des stratégies « filière » peuvent être mises en place, souvent à l'initiative des DISTRI. Toutefois, ces modes d'organisation demeurent encore assez rares pour des raisons diverses comme les différences de taille entre les opérateurs (DISTRI national *vs.* OS ou OP locale), la question clé de la répartition de la valeur ajoutée ou la transparence des opérateurs. En outre, il a été souligné que les AGRI se retrouvent souvent « écartés » de ces discussions entre opérateurs. Ceci conduit alors des questionnements sur la « perte de sens » de leur activité et de leur métier (*« pour quoi, pour qui je produis cela ? »*).

CONCLUSION

Au travers d'une approche de « jeu sérieux » prenant la forme d'un « jeu de rôle » aux décisions assistées par des calculateurs développés *ad hoc*, notre étude a permis de mieux comprendre le fonctionnement des filières végétale et avicole, ainsi que leur articulation, pour l'alimentation des volailles. Ainsi, des défis de taille subsistent encore pour le secteur de l'alimentation animale pour réussir à mieux faire connaitre leurs demandes/besoins auprès des acteurs du végétal et ainsi accéder à des volumes de MP riches en protéines françaises à des prix raisonnables. En outre, la mise en situation de professionnels lors d'une session de jeu, leur a permis de mieux prendre conscience des enjeux/contraintes des autres maillons présents et de comprendre leurs pratiques et règles de décisions. L'approche proposée décrite ici constitue donc un outil d'animation de filières et un support pour le dialogue entre opérateurs.

REMERCIEMENTS

Cette étude, réalisée dans le cadre de l'UMT BIRD a été financée par le fonds CASDAR (projet VOCALIM n°5542 ; 2016-2019), le CIPC et Terres Univia. Les auteurs remercient l'ensemble des professionnels des secteurs végétal et animal consultés pendant la phase de développement du jeu et ceux ayant participé à la session de jeu. Les auteurs remercient également les partenaires du projet ayant participé à l'animation de la session de jeu.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Danel J., Dusart L., Recoules E., Quinsac A., Tormo E., Vilariño M., 2019. 13èmes JRA-PFG, 484-489.
Quinsac A., Dauguet S., Peyronnet C., Krouti M., Gendron A., Carré P., Brionnet F., 2019. 13èmes JRA-PFG, 166-171.
Martin G., Felten B., Duru M., 2011. Environ. Model. Soft., (26), 1442-1453.
Pampouille E., Dusart L., Bonnouvrier A., Danel J., Dauguet S., Désolé M., Heuzé V., Lambert W., Le Bourhis C. Le Cadre P., Martin N., Méda B., Michaud C., Mignon-Grasteau S., Narcy A., Peyronnet C., Quinsac A., Recoules E., Schouler C., Tormo E., Tran G., Vilariño M., Wilfart A., Bouvarel I., 2021. Innov. Agro., (82), 425-440.
Recoules E., Brévault N., Le Cadre P., Peyronnet C., Bouvarel I., Lessire M., 2016. INRA Prod. Anim., (29), 129-140.
Ryschawy J., Faure J., Moojen F., Thénard V., 2021. 72ème Meeting annuel de l'EAAP, 464.

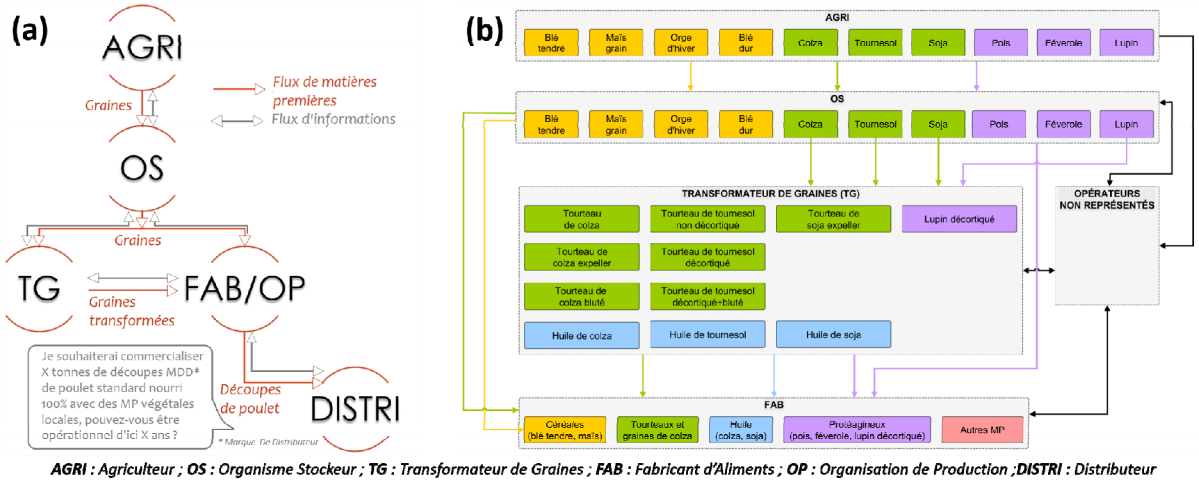


Figure 1. (a) Représentation simplifiée des 5 rôles « clés » considérés dans le jeu de rôle et des interactions entre filières végétale et avicole. (b) Flux de matières premières possibles entre les différents maillons.

Tableau 1. Principales informations disponibles, décisions prenables par les joueurs et données produites par le calculateur pour les cinq maillons considérés dans le jeu de rôle.

	Agriculteur (AGRI)	**Organisme Stockeur (OS)**	**Transformateur de Graines (TG)**	**Fabricant d'Aliment (FAB)**	**Organisation de Production (OP)**	**Distributeur (DISTRI)**
Informations disponibles	Rendements moyens (t/ha) et charges (€/ha) par culture et type de sol avec/sans irrigation	Rendements moyens par culture et type de sol avec/sans irrigation (t/ha)	Prix de marché des graines entières et des produits transformés (€/t)	Matrice de formulation (prix et caractéristiques nutritionnelles des matières premières)	Nombre d'éleveurs dans l'OP (poulets Standard et Label)	Volumes de filets/cuisses vendus sous MDD (t)
	Prix de vente moyens des graines (€/t par type de graine)	Prix moyen payé aux AGRI (€/t par type de graine)	Coût de transport et de transformation (€/t) et rendements de transformation (%) selon les graines et les procédés technologiques	Contraintes de formulation pour aliments Standard et Label	Volumes annuels de filets/cuisses produits (t) et coûts de production associés (€/t)	Prix d'achat moyens des filets/cuisses à l'abattoir (€/t)
	Aides spécifiques à la culture de soja et de protéagineux (€/ha)	Prix de marché des graines (€/t par type de graine)	Capacité de production des usines par production (t)	*Besoins de l'OP en aliments pour les trois gammes (t)*	*Besoins du DISTRI en filets/cuisses de poulet avec/sans cahier des charges MPVFr (t)*	Prix de vente moyen et consentement maximal à payer du consommateur pour des filets/cuisses (€/kg)
	Besoins de l'OS en surfaces à cultiver (ha/type de graine)	*Besoins du TG et du FAB en graines (t)*	*Besoins du FAB en produits (t)*			Prix de vente des filets/cuisses en fonction du prix d'achat à l'abattoir et de la marge (€/kg)
Décisions prenable par les joueurs	Assolement annuel par culture et type de sol avec/sans irrigation (ha)	Coûts logistiques liés au stockage (€/t/type de graine)	Volumes achetés à l'OS (t/type de graine)	Contraintes matières premières et niveaux nutritionnels pour la formulation des aliments	Nombre d'éleveurs Standard sous cahier des charges MPVFr	Part des découpes MDD vendues avec la mention MPVFr (%)
	Volumes vendus à l'OS et hors OS et prix de vente associés (t et €/t par type de graine)	Volumes achetés aux AGRI et prix d'achat associés (t et €/t par type de graine)	Prix d'achat à l'OS (€/t/type de graine)	Volumes achetés à l'OS et prix d'achat associés (t et €/t par type de graine)	Objectifs de marge sur la vente des filets et des cuisses de poulet avec/sans cahier des charges MPVFr (%)	Prix de vente des filets/cuisses avec/sans mention MPVFr (€/kg) et objectifs de marge associés (% ou €/t)
		Volumes vendus au FAB et au TG et prix de vente associés (t et €/t par type de graine)	Volumes vendus au FAB et prix de vente associés (t et €/t par type de produit)	Volumes achetés au TG et prix d'achat associés (t et €/t par type de produit)	Volumes de filets/cuisses de poulet avec/sans cahier des charges MPVFr vendus au DISTRI (t)	Prix d'achat des filets/cuisses de poulet avec/sans cahier des charges MPVFr (€/t)
			Répartition des graines entre les usines et les filières de production (t)	Objectifs de marge sur la vente d'aliment (%/aliment)	Prix des filets/cuisses de poulet avec/sans cahier des charges MPVFr vendus au DISTRI (€/t)	
Données produites par le calculateur	Marges brutes prévisionnelles par culture et globale (€/ha)	Volumes de graines à acquérir (t)	Volumes de graines à acquérir (t)	Volumes de matières premières à acquérir (t)	Volumes d'aliments à produire pour les trois gammes (t)	Volumes achetés de filets/cuisses de poulet Standard avec/sans cahier des charges MPVFr (t)
	Rendements réels (t/ha) et récolte annuelle (t)	Marge brute prévisionnelle globale et par type de graine (€/t)	Marge brute prévisionnelle globale et par type de produit (€/t)	Composition en matières premières (%) et prix (€/t) des aliments des trois gammes (%)	Volumes produits de filets/cuisses de poulet Standard avec/sans cahier des charges MPVFr (t) et marges brutes associées (€/t)	Marge brute globale et par type de découpe avec/sans mention MPVFr (€/t)
	Marges brutes réelles et globale et par culture (€/ha)	Marge brute réelle globale et par type de graine (€/t)	Marge brute réelle globale et par type de produit (€/t)		Marge brute globale et par type de découpe avec/sans cahier des charges MPVFr (€/t)	Prix de vente final des filets/cuisses avec/sans mention MPVFr (€/kg)

MPVFr : Alimentation à base de matières premières végétales 100% françaises ; MDD : Marque De Distributeur. *Italique* : informations accessibles en interagissant avec les autres joueurs.

EVALUER LES SERVICES RENDUS PAR UN ATELIER DE VOLAILLES AVEC PARCOURS : LE CADRE METHODOLOGIQUE BOUQUET

Chiron Geoffrey[1], Pertusa Marion[1], Méda Bertrand[2], Protino Juliette[3], Fortun-Lamothe Laurence[4], Liagre Fabien[5], Gross Hélène[6], Parizel Alexandre[7], Tavares Olivia [8], Fontanet Jean-Marie[1], Bouvarel Isabelle[1]

[1]ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonnière, 75009 PARIS, France
[2]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France
[3]SYNALAF, 7 Rue du Faubourg Poissonnière, 75009 PARIS, France
[4]INRAE, Université de Toulouse, INP-ENSAT, INP-ENVT,GenPhySE, 31326 CASTANET-TOLOSAN, France
5 AGROOF- 19 rue du Luxembourg 30140 Anduze, France
[6]ACTA - 149, Rue de Bercy, 75595 PARIS CEDEX 12, France
[7]AFAF, 93 route de Pessan, 32000 AUCH, France
[8]ITAB, 9 rue André Brouard - BP 70510, 49105 ANGERS CEDEX 02, France

chiron@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

En élevage avicole plein-air, l'aménagement des parcours est raisonné en premier lieu pour apporter du confort aux volailles. Toutefois, d'autres services peuvent être fournis, comme l'amélioration du revenu, la contribution aux emplois directs et indirects ou encore le stockage de carbone et le maintien de la biodiversité. Ces services nécessitent d'être explicités et quantifiés afin de mieux les prendre en compte, et ainsi mieux raisonner l'aménagement et la gestion des parcours. Développée par un groupe d'experts, la méthode d'évaluation des services, dite méthode BOUQUET concerne les ateliers avicoles avec parcours (chair, ponte et palmipèdes gras). Elle a également été discutée et validée avec des utilisateurs potentiels (éleveurs, techniciens, conseillers). La méthode considère 13 services répartis en 5 catégories qui sont quantifiés à l'aide de 29 indicateurs. L'évaluation se déroule en trois phases sur une demi-journée : i) travail cartographique à partir d'une photo aérienne du site, ii) entretien avec l'éleveur et iii) mesures sur le parcours étudié. Les données sont ensuite saisies dans un calculateur qui les transforme en scores pour chaque service et restitue une représentation globale des résultats par catégorie de services. L'analyse de ces résultats permet à l'éleveur de faire évoluer son regard sur la gestion et l'aménagement des parcours, d'instaurer un dialogue avec ses conseillers et de discuter d'un plan d'action approprié en fonction de ses propres contraintes et aspirations.

ABSTRACT

Evaluating services provided by a free-range poultry production unit: the BOUQUET methodological framework

In free-range poultry production, outdoor runs are managed mainly to provide comfort to the animals. Other services can be provided, however, such as an increase in income, creation of direct and indirect jobs, carbon sequestration and maintenance of biodiversity. To consider them better, these services need to be identified and quantified, which will help improve management of the outdoor run. Developed by a group of experts, the service-evaluation method, called BOUQUET, focuses on free-range production units (meat, eggs and fattened ducks and geese). It was also discussed and validated with representatives of its potential users (farmers, technicians, advisers). The method considers 13 services, divided into 5 categories, which are estimated using a set of 29 indicators. The assessment, which takes half a day, has three steps: i) mapping the site using an aerial photo, ii) interviewing the farmer and iii) measuring the outdoor run studied. After being entered into a calculator, data are then transformed into scores for each service, and an overall representation of results by category of service is presented. Analysis of these results allows farmers to reflect on the management of their outdoor runs, establish discussions with their advisers, and discuss appropriate action plans as a function of their constraints and expectations.

INTRODUCTION

La place du parcours dans l'atelier de production avicole doit être mieux prise en compte, sa multifonctionnalité pouvant apporter de multiples bénéfices utiles pour différentes parties prenantes (l'éleveur, le consommateur, la société ; Chiron et *al.* 2019, Méda et *al.* 2019). Dans ce contexte, il est apparu nécessaire de doter les acteurs des filières avicoles d'un outil d'évaluation des différents services rendus par les parcours. Il a pour but de servir de support d'échanges entre l'éleveur et ses différents interlocuteurs et d'orienter vers un plan d'aménagement et de gestion des parcours cohérent avec les attentes et les ambitions pour le système. La méthode BOUQUET a ainsi été développée par un groupe projet constitué d'experts spécialisés dans différents domaines (zootechnie, économie, environnement, biodiversité, agroforesterie) puis discutée et validée avec de futurs utilisateurs (éleveurs, techniciens, conseillers). Le cadre conceptuel décrit par Chiron et *al.,* (2019) comprend 13 services répartis en 5 catégories de services. Le présent article a pour objectif d'expliquer le cadre méthodologique de la méthode.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1 Choix des indicateurs et test de la méthode

Cinq groupes thématiques (économie, social, environnement, biodiversité et bien-être animal) constitués à partir d'experts ont sélectionné des indicateurs permettant de mesurer les différents services. Les qualités requises pour les indicateurs, en accord avec Lairez et *al.* (2015), étaient qu'ils soient :

- Pertinents et fiables : pour l'évaluation des services rendus par les ateliers avec parcours
- Sensibles : pouvant varier avec un changement de pratique ou selon le contexte de l'étude (socioéconomique, pédoclimatique).
- Simples et rapides à mettre en œuvre : l'évaluation devant pourvoir être conduite sur une demi-journée sans frais (d'analyses ou d'achat de matériel)

Plusieurs indicateurs ont pu être proposés pour appréhender un même service. Une première série de tests a été effectuée en lycées agricoles et stations expérimentales (16 parcours évalués) en filière poulets de chair, pondeuses et palmipèdes gras pour évaluer la faisabilité et les contraintes liées aux protocoles de mesure des indicateurs et proposer des évolutions. Une seconde phase de tests a concerné 21 fermes commerciales. Ces fermes ont été sélectionnées pour leur diversité en termes de production (espèces, signes officiels de qualité), de zones géographiques, de productions secondaires et d'aménagements, afin de vérifier que la méthode était utilisable dans des conditions variées. Ces tests ont permis de finaliser la méthodologie d'évaluation des services et de valider l'outil développé.

1.2 Transformation en scores, pondération et représentation des résultats

Suite aux avis des experts, les valeurs des indicateurs ont chacune été transformées en score sur une échelle allant de 0 à 5 permettant ainsi de donner un niveau de fourniture du service par l'atelier avec parcours (0 : service non fourni, 5 : fourniture « maximale »). Des indicateurs au sein d'un même service ont été pondérés en sollicitant les groupes d'experts thématiques (13 personnes) afin de rendre compte de leurs importances relatives. La pondération entre services au sein d'une même catégorie de services s'est appuyée sur les retours et avis de professionnels (20 personnes). Enfin, il a été choisi de représenter les résultats à l'échelle agrégée des catégories de services, sans aucune pondération entre catégories.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Indicateurs

Les tests en stations expérimentales et fermes commerciales ont permis la sélection de 29 indicateurs (Tableau 1). Ils ont également validé la faisabilité des protocoles et méthodologies de recueil des données nécessaires au calcul des indicateurs. Au final, la méthode conjugue des indicateurs de moyens (ex. présence et répartition sur le parcours d'éléments de protection contre le vent et le soleil) et des indicateurs d'état/résultat (ex. état du couvert végétal du parcours). Certains indicateurs sont quantitatifs (ex. production agricole) et d'autres qualitatifs voire subjectifs (ex. appréciation du cadre de travail). Enfin, d'autres indicateurs sont des composites associant des données quantitatives et qualitatives (ex. nombre annuel d'heures travaillées associées à un ressenti de pénibilité physique/ psychique).

C1 – Production de ressources et de valeur

Le premier service, relatif au revenu de l'éleveur (*S1 : Production d'un revenu et/ou constitution d'un patrimoine*), est évalué via trois indicateurs : l'index de performance des productions de protéines animales, le chiffre d'affaire des productions secondaires et la valeur attribuée aux arbres présents pour la production de bois énergie, d'œuvre, de piquets ou bois raméal fragmenté. Le second service (*S2 : Approvisionnement en produits agricoles et en énergies renouvelables*) prend en compte le nombre de productions secondaires sur le parcours ainsi que le tonnage des protéines animales, des productions secondaires et la quantité de kWh produits par des énergies renouvelables (bois énergie, solaire).

C2 – Qualité de vie de l'éleveur

La qualité de vie de l'éleveur est un concept subjectif. Afin de standardiser la mesure des services, deux notions ont été considérées ; i) la comptabilisation du

nombre d'heures travaillées par an par l'éleveur sur son parcours, associée à ii) son ressenti en termes de pénibilité physique et psychique (échelle de 0 (non pénible) à 5 (très pénible)) pour chaque tâche exécutée, permettent d'établir un score global pour le service *Appréciation du métier par l'éleveur (S4)*. L'*Amélioration des conditions de travail et de vie (S3)* est évaluée par des questions posées à l'éleveur afin d'estimer la contribution du parcours à l'appréciation de son cadre de travail et de son métier.

C3 – Relations élevage-consommateurs-citoyens

Deux notions sont considérées dans le service *Réponses aux attentes des consommateurs (S5)*. En premier lieu, la qualité des produits est estimée par la quantification du nombre de Signes Officiels de la Qualité et de l'Origine (SIQO) issus du parcours ainsi que des mentions valorisantes pour la production de bois. En second lieu, le bien-être animal est évalué en fonction de la présence et de la répartition sur le parcours d'éléments de protection contre le vent et le soleil ainsi que par les niveaux d'exploration des animaux, estimés au regard de l'état du couvert végétal. Le second service (*Interactions avec les consommateurs et la société(S6)*) est évalué via un questionnaire adressé aux producteurs, afin de déterminer leur niveau d'interactions avec les consommateurs et les citoyens (interventions en GMS, réseaux sociaux, ...) sur la thématique des parcours.

C4 – Intégration territoriale

Le service *Emplois locaux (S7)* est évalué par la comptabilisation du temps de travail effectif sur le parcours réalisé par l'éleveur et ses associés, ainsi que par le nombre de type d'intervenants extérieurs sur le site (conseillers, livreur d'aliment, entreprise d'entretien des arbres). Pour évaluer l'*Esthétisme du paysage (S8*), la méthode se base sur le taux de couverture du sol du parcours (prairie et éléments arborés). Enfin, l'élevage plein-air peut contribuer à une identité collective à l'échelle d'un territoire, dont les indications géographiques (AOP/AOC et IGP) ou l'Agriculture Biologique peuvent représenter des marqueurs (*S9 : Identité territoriale*).

C5 – Qualité environnementale

Le service *Recyclage des nutriments (S10)* est approché via la qualification du risque de pollution des eaux en azote et phosphore par lessivage ou ruissellement (pluviométrie, texture du sol, engorgement, pente) et les aménagements permettant de le limiter (couverture végétale, occupation du sol, et aménagements en bordure de parcours). Le critère *Atténuation du changement climatique (S11)* est abordé via le stockage de carbone. Il est estimé par la quantification et qualification des éléments arborés (mètres linéaires de haies, du nombre, de la hauteur et du diamètre à 1,30 m des arbres et de la surface du couvert végétal herbacé), ainsi que par la capacité à stocker ou déstocker l'année n+1 en fonction des pratiques de l'éleveur (fauche, retournement de prairie…). Des valeurs de références de stockage du carbone ont pour cela été collectées dans la littérature (e.g. CNPF 2017 et 2020, Gac et al. 2020) ou à dires d'experts. Concernant la *Pollinisation (S12)* et la *Préservation de la biodiversité et de la connectivité des milieux (S13),* l'évaluation prend en compte les arthropodes volants (dont les pollinisateurs) pour la biodiversité animale, les essences et espèces prairiales (dont celles à haut potentiel mellifère) pour la biodiversité végétale, ainsi que les habitats en calculant les Surfaces d'Intérêt Ecologique (SIE) présentes sur le parcours (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2021).

2.2 Déroulé d'une évaluation

Afin de récolter les données permettant d'évaluer les services, l'évaluation se déroule en 3 étapes :

- Cartographie du parcours. Cette première étape est réalisée grâce à une photographie aérienne du site d'élevage à partir du site Géoportail (http://www.geoportail.gouv.fr, Figure 1). Elle permet d'identifier et de mesurer les différentes zones du parcours (sortie de trappe, milieu de parcours et fond de parcours) et de quantifier les SIE, la pente et les éléments en bordure de parcours.
- Entretien avec l'éleveur. Un questionnaire soumis à l'éleveur sur site permet de récolter son temps et sa pénibilité ressentie associés aux travaux sur le parcours, sa perception du parcours, ses interactions avec le consommateur-citoyen ainsi que ses pratiques et données technico-économiques de l'atelier étudié.
- Relevés sur le parcours. Cette étape comprend l'identification des essences et le potentiel de valorisation du bois des arbres et des haies (énergie, œuvre ou piquets), l'évaluation de la capacité mellifère du couvert herbacé, le comptage d'arthropodes volants le long d'un transect, la détermination de la texture du sol et la qualification de l'occupation du sol.

2.3 Transformation en scores, pondération et représentation des résultats

Les valeurs des indicateurs sont ensuite saisies dans un calculateur Excel® qui les convertit automatiquement en scores compris entre 0 et 5 (Figure 2). La conversion des indicateurs quantitatifs a été basée sur des fonctions continues. Pour les indicateurs qualitatifs, un score spécifique a été attribué à chaque modalité. Les scores sont ensuite agrégés par service puis par catégorie de service en tenant compte des pondérations (Tableau 1). Par exemple, l'indicateur *Index de performance de l'atelier avec parcours (I1)*, comptera pour 40 % de la note du service *Production d'un revenu et/ou constitution d'un patrimoine (S1)* contre 30% pour les

indicateurs relatifs aux productions secondaires (*I2* et *I3*). L'outil offre un récapitulatif des scores, des indicateurs et services par catégories de services et une représentation sous forme de radar des scores des cinq catégories de services pour avoir une vision globale de l'évaluation (Figure 2).

2.4 Exemple

Les scores de l'évaluation d'un atelier de production de poulets de chair biologiques, situé au cœur des Deux-Sèvres, est présenté comme exemple (Figure 2). Le bâtiment de 480 m² est ouvert sur un parcours aménagé de 2,7 ha. Une partie du parcours est arborée avec des frênes âgés de plus de 20 ans et une seconde comprend des alignements d'arbres fruitiers, plantés en 2016 avec, en inter-rangs, une production de maïs. Le parcours est bordé d'une haie périphérique et présente aussi une haie centrale (Figure 1).

C1 – Production de ressources et de valeur
En plus des poulets (4800/lot), l'éleveur produit du maïs et du bois énergie sur le parcours, pour un chiffre d'affaires d'environ 800 €/ha/an. Les fruitiers, quant à eux, ne sont pas encore productifs.

C2 – Qualité de vie de l'éleveur
L'éleveur apprécie de travailler sur son parcours, qu'il considère comme un atout considérable pour son cadre de travail. Il affectionne particulièrement la conduite et l'entretien de ses arbres. Il considère son travail comme peu contraignant et celui-ci est estimé à 78h/ha/an.

C3 – Relations élevage-consommateurs-citoyens
La conception de son parcours permet de protéger les volailles du vent (haies en opposition au vent dominant) et du soleil (points d'ombrage dispersés). Les aménagements réalisés ont été conçus de façon à favoriser au maximum l'exploration du parcours par les volailles. En outre, l'éleveur est très proactif dans sa communication avec les consommateurs au sujet de son métier.

C4 – Intégration territoriale
L'élevage est certifié en Agriculture Biologique. Ce label officiel impose un « lien au sol » à l'alimentation utilisée, ce qui est une source supplémentaire d'intégration territoriale. En outre, l'éleveur est extrêmement investi au sein de son territoire et anime notamment un espace de vente partagée.

C5 – Qualité environnementale
La culture de maïs sur le parcours exporte du carbone mais la perte de matière organique dans le sol est compensée par la présence de nombreux arbres et haies. Le parcours présente toutefois d'importants déficits en ce qui concerne les espèces pollinisatrices et mellifères présentes.

Bilan
Le radar généré donne une vision globale des services rendus par l'atelier : le bouquet de services est bien équilibré, avec des scores compris entre 3,2 et 4,3 (Figure 2). Toutefois, l'éleveur dispose encore d'une marge de progression sur certaines catégories de services. Il a pour ambition de mettre en place des ombrières photovoltaïques sur son parcours, ce qui contribuerait à la catégorie de services *Production de ressources et de valeur (C1)*. De même, l'implantation d'espèces mellifères sur le parcours permettrait d'attirer des pollinisateurs et donc de contribuer à la *Qualité environnementale* (Tableau 1). L'état des lieux synthétique ainsi réalisé peut ainsi servir de support de réflexion pour l'éleveur. Tout d'abord, il permet de le sensibiliser à la diversité des services rendus un atelier de production avec parcours et de comprendre le concept de « bouquet » de services, en d'autre termes l'équilibre entre services. En outre, au regard de ces concepts, il permet à l'éleveur de raisonner les pratiques et aménagements en fonction de ses attentes, objectifs et contraintes. Enfin, l'éleveur a déclaré son envie d'utiliser la méthode BOUQUET régulièrement pour suivre l'évolution des services rendus par son parcours, au regard de l'évolution des aménagements ou pratiques. Son but est de pouvoir acquérir des données pour appréhender plus concrètement les contributions apportées par l'aménagement de son parcours et ainsi témoigner de sa démarche auprès d'autres producteurs. Sa motivation personnelle est de pouvoir convaincre autour de lui de l'intérêt des aménagements réalisés, par le biais d'éléments tangibles.

CONCLUSION

La méthode BOUQUET permet aujourd'hui aux éleveurs d'avoir une vision systémique des différents services générés par leurs parcours. Elle servira de base de réflexion pour faire progresser leur outil de production, en accord avec leurs contraintes et aspirations propres, tout en répondant aux attentes sociétales. L'outil est en cours de déploiement à l'échelle nationale. Un groupe de conseillers et techniciens de différentes régions a été formé à l'utilisation de la méthode afin qu'ils puissent la mettre en pratique chez des éleveurs. Les travaux se poursuivent pour élaborer un module complémentaire de simulation de l'impact des aménagements sur les différents services. En outre, un « jeu sérieux » BOUQUET a également été développé (Pertusa *et al.*, 2022) pour sensibiliser éleveurs, techniciens et étudiants à la notion de services. L'outil d'évaluation des services et le jeu sérieux sont disponibles à l'ITAVI sur demande par les parties prenantes.

REMERCIEMENTS

Le projet CASDAR BOUQUET n° 5667, réalisé dans le cadre de l'UMT BIRD, a été financé par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation et le CNPO. Les auteurs remercient tous les professionnels

consultés, les partenaires du projet BOUQUET (ACTA, AFAF, AGROOF, APESA, AP32, CEPSO, CA72, ITAB, INRAE, ITAVI, SYNALAF) et tous les éleveurs, les lycées agricoles (Nature, Sardières, et Sabres), et les stations expérimentales (INRAE UE EASM, Le Magneraud et UE PFG, Artiguères) ayant participé au développement et au test de la méthode.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chiron G., Méda B., Pertusa M., Protino J., Lamothe L., Dupuy L., Gross H., Lavoyer S., Roinsard A., Guillet P., Fontanet J.-M., Bouvarel I. 2019, 13èmes JRA-PFG, 339-343.

Gac A., Dollé J.-B., Le Gall A., Klumpp K., Tallec T., Mousset J., Eglin T., Bispo A., Peyraud J-L., Faverdin P. 2020. IDELE Collection l'Essentiel.

CNPF 2017. Étude de faisabilité Climafor. Rapport final

CNPF 2020. Label Bas Carbone. Méthode boisement

Méda B, Dupuy L, Dumont B, Hercule J, 2019. 13èmes JRA-PFG, 330-338.

Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2021. Consulté le 03/12/2021. https://www2.telepac.agriculture.gouv.fr/telepac/pdf/tas/2021/Dossier-PAC-2021_notice_SIE.pdf

Pertusa M., Falcon V., Lesgourgues M., Méda B., Bouvarel I., Liagre F., Guillet F., Chiron G., Fortun-Lamothe L., 2022. 14èmes JRA-PFG, *sous presse*.

Tableau 1. Catégories de services, services, indicateurs et bénéficiaires des services composant la grille d'évaluation BOUQUET. La pondération des indicateurs/services est indiquée en % entre parenthèses

Catégorie		Service		Indicateur	
N°	**Nom**	**N°**	**Nom**	**N°**	**Nom**
C1	Production de ressources et de valeur	S1	Production d'un revenu et/ou constitution d'un patrimoine (50%)	I1	Index de performance de l'atelier avec parcours (40%)
				I2	Chiffre d'affaire annuel des productions secondaires issues du parcours (30%)
				I3	Potentiel des productions secondaires de long terme issues du parcours (30%)
		S2	Approvisionnement en produits agricoles et en énergies renouvelables (50%)	I4	Quantité annuelle de protéines d'origine avicole produites par l'atelier avec parcours (45%)
				I5	Tonnes de produits issues du parcours (20%)
				I6	Nombre de productions secondaires issues du parcours (15%)
				I7	Approvisionnement en énergie renouvelable par l'atelier avec parcours (20%)
C2	Qualité de vie de l'éleveur	S3	Amélioration des conditions de travail et de vie (60%)	I8	Nombre d'heures travaillées par l'éleveur par an sur le parcours (33%)
				I9	Ressenti par l'éleveur de la pénibilité (physique et psychique) du travail sur le parcours (33%)
				I10	Contribution du parcours sur l'appréciation du cadre de travail de l'éleveur (33%)
		S4	Appréciation du métier (40%)	I11	Estimation par l'éleveur de la contribution du parcours sur l'appréciation de son métier (100%)
C3	Relations élevage-consomma-teurs-citoyens	S5	Réponses aux attentes des consommateurs et des citoyens (60%)	I12	Protection des volailles contre le vent et le soleil sur le parcours (40%)
				I13	Exploitation du parcours par les volailles (40%)
				I14	Nombre de produits SIQO issus du parcours (20%)
		S6	Interactions avec les consom-mateurs et la société (40%)	I15	Communication de l'éleveur autour du parcours avec les consommateurs-citoyens (100%)
C4	Intégration territoriale	S7	Création et/ou maintien d'emplois locaux (33%)	I16	Nombre d'UTA travaillant sur le parcours (66%)
				I17	Nombre de type d'intervenants extérieurs sur l'atelier avec parcours (33%)
		S8	Esthétisme du paysage (33%)	I18	Couverture herbacée et arborée du parcours (100%)
		S9	Contribution à l'identité territoriale (33%)	I19	Nombre de productions sous signe de qualité issues du parcours (50%)
				I20	Nombre de participations annuelles de l'éleveur à un événement du terroir (50%)
C5	Qualité environne-mentale	S10	Recyclage des nutriments (25%)	I21	Vulnérabilité des eaux superficielles à la pollution à N et P sur le parcours (50%)
				I22	Vulnérabilité des eaux souterraines à la pollution à N et P sur le parcours (50%)
		S11	Atténuation du changement climatique (25%)	I23	Quantité potentielle de carbone séquestrée par les arbres et les haies du parcours (66%)
				I24	Capacité potentielle de séquestration du carbone additionnel (33%)
		S12	Pollinisation (25%)	I25	Diversité des espèces pollinisatrices sur le parcours (50%)
				I26	Capacité mellifère du parcours (50%)
		S13	Préservation de la biodiversité et connectivité des milieux (25%)	I27	Biodiversité animale : diversité d'arthropodes volants sur le parcours (20%)
				I28	Biodiversité végétale : diversité d'arbres et d'herbacées sur le parcours (40%)
				I29	Biodiversité des habitats : densité et connexion des SIE sur le parcours (40%)

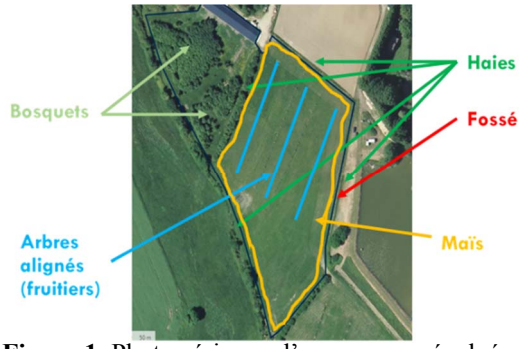


Figure 1. Photo aérienne d'un parcours évalué et identifications des éléments paysagers le composant.

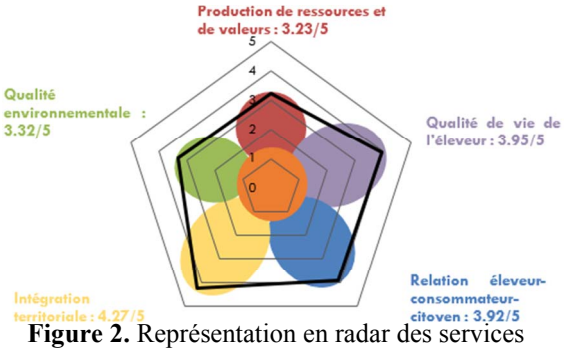


Figure 2. Représentation en radar des services rendus par un atelier de production de poulets de chair biologiques dans les Deux-Sèvres.

SESSION

DURABILITE – ENVIRONNEMENT

Synthèse

RECONNECTER LES PRODUCTIONS ANIMALES ET VÉGÉTALES AVEC LEUR TERRITOIRE POUR UNE DIMINUTION DE L'EMPREINTE ENVIRONNEMENTALE : DÉFIS ET OPPORTUNITÉS POUR L'AVICULTURE FRANÇAISE

Harchaoui Souhil[1], Wilfart Aurélie[1], Blazy Vincent[2], Péchenart Elodie[3]

[1]INRAE, UMR SAS, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes, France ,[2]ITAVI, Rue Maurice le Lannou, 35000 Rennes, France,[3]ITAVI, 42 rue Georges Morel, 49070 Beaucouzé, France

souhil.harchaoui@inrae.fr

RÉSUMÉ

Les logiques d'économies d'échelle et d'agglomération associées à la mondialisation des échanges ont conduit à un découplage géographique entre productions végétales et productions animales entraînant une ouverture des cycles biogéochimiques et de fortes pollutions (eaux, sols, air). L'une des voies proposées par la transition agroécologique, pour réduire les impacts environnementaux de l'agriculture, est de renforcer la connexion des systèmes de productions végétales et animales au-delà de l'exploitation, en privilégiant l'échelle des territoires. Face aux enjeux de transition agricole et aux prévisions de croissance des productions avicoles, l'aviculture peut jouer un rôle moteur dans la circularité des flux de matières et d'énergie dans les territoires. Dans ce contexte, l'objectif de cette synthèse est d'identifier et d'évaluer le potentiel de reconnexion entre filières avicoles et végétales au sein des territoires. Relativement peu d'analyses s'intéressent à la filière avicole dans les travaux de reconnexion. Afin d'illustrer ces potentialités de reconnexions, nous choisissons d'examiner les flux d'azote de la filière avicole à l'échelle de la France. Nos résultats mettent en perspective, à l'aide d'une quantification, les possibilités de réduction des fuites d'azote, d'amélioration de la valorisation des intrants et de minimisation de la dépendance aux intrants extérieurs. La transition agroécologique de l'aviculture passe par un changement de paradigme qui permet non seulement de décloisonner les filières, mais aussi de faire émerger un pilotage systémique de la circularité des flux de nutriments entre productions animales et végétales au sein des territoires.

ABSTRACT

Reconnecting livestock and crop systems with their territory to reduce the environmental footprint: challenges and opportunities for the poultry sector in France

Economies of scale and agglomeration combined with trade globalization have led to the spatial decoupling of crop and animal production, resulting in the opening of biogeochemical cycles, and major pollution (water, soil and air). One of the ways suggested by the agro-ecological transition to reduce environmental impacts of agriculture is to strengthen the connection between plant and animal production systems beyond the farm, focusing on the scale of the territories. Faced with the challenge of agricultural transition and growth forecasts for poultry productions, poultry farming can play a driving role in the circularity of material and energy flows in the territories. In this context, the objective of this synthesis is to identify and evaluate the potential for reconnection between poultry and plant sectors within territories. Relatively few analyses address the poultry sector in studies on the reconnection. In order to illustrate the potential for reconnection, we choose to examine the nitrogen flows of the poultry industry at the French scale. Our results put into perspective, through quantification, the possibilities of reducing nitrogen losses, improving the valorization of inputs and minimizing the dependence on external inputs. Agro-ecological transition of poultry farming requires a paradigm shift that not only breaks down barriers between sectors, but also adopts a systemic management of nutrient flows between animal and plant productions within the territories.

INTRODUCTION

Depuis la publication du rapport *Livestock's Long Shadow* (Steinfeld et al., 2006), les productions animales sont décriées au regard de leurs impacts sur l'environnement. Néanmoins, l'élevage contribue à la sécurité alimentaire et les prospectives agricoles tablent sur une augmentation de la consommation mondiale de protéines animales de 14% d'ici 2030 (OECD, 2021). Depuis plusieurs années, les systèmes intégrés de polyculture-élevage (*PCE ou Integrated Crop-Livestock Systems en anglais*) (Ryschawy et al., 2014) sont proposés comme une alternative plus durable pour les productions animales et répondant aux enjeux environnementaux (Schut et al., 2021). Les PCE sont des systèmes qui combinent productions de cultures et d'élevage sur un même espace d'exploitation ou groupe d'exploitations agricoles. L'objectif est de favoriser les synergies et les complémentarités des ateliers de productions en valorisant les sous-produits recyclés par les cultures et l'élevage au sein de l'exploitation tout en réduisant les déchets et émissions sortants du système. Il existe une diversité de systèmes PCE qui favorisent, avec des gradients d'intégration, la circularité des flux de nutriments et d'énergie dans l'agriculture. De nombreux travaux ont mis en évidence à l'échelle des exploitations agricoles (Bonaudo et al., 2014 ; Martel, 2017 ; Moraine et al., 2014), puis à l'échelle territoriale (Asai et al., 2018; Garrett et al., 2020; Moraine et al., 2019), les avantages environnementaux (Lemaire et al., 2014; Martin et al., 2016; Ryschawy et al., 2018) et économiques (Russelle et al., 2007; Wilkins, 2008) des PCE par rapport aux systèmes spécialisés qui restent majoritaires en Europe. Néanmoins, ces travaux analysent le plus souvent des systèmes de polyculture-élevage en lien avec des ruminants (Garrett et al., 2017) notamment des systèmes herbagers, mais encore très peu examinent le secteur avicole. Pourtant, dans les prévisions mondiales, l'aviculture affiche la plus grande croissance avec plus de 17.8% d'ici 2030 (OECD, 2021). Afin de concilier ces perspectives de croissance et réduction d'impacts environnementaux, il est impératif pour l'aviculture de s'approprier les principes des PCE.

À travers l'exemple du cycle de l'azote dans le secteur avicole, cette synthèse propose un état de l'art sur les moyens de reconnecter les productions animales et végétales à l'échelle territoriale.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Construction du corpus d'études

Notre corpus d'étude s'est construit à l'aide de la méthode de critères d'évaluation PRISMA, qui est un protocole standard pour les revues systématiques (Moher et al., 2009). L'objectif de cette requête est de capturer l'ensemble des études examinant la reconnexion des systèmes d'élevage et de grandes cultures à différentes échelles spatiales.

La chaîne de recherche ((crop-livestock systems OR coupled farming systems OR circular* OR mixed farming OR cycl* OR agroeco) AND (region* OR territor* OR landscape OR Area OR Land) AND (impact* OR environment* OR footprint) AND (livestock OR poultry) AND (tool OR method OR metabolism OR measure OR evaluat*)) a été appliquée dans la base de données ISI Web of Knowledge. Cette recherche initiale a identifié 258 articles (août 2021) dont cinq revues approfondies. Cette liste a été réduite à 137 articles après analyse des titres, résumés et mots-clés afin de ne retenir que les articles ayant pour objet d'étude l'intégration ou le recouplage des productions végétales et animales.

1.2. Calcul des flux d'azote et de l'empreinte spatiale de la filière avicole

A partir des données statistiques de FAOSTAT (FAOSTAT, 2021), nous avons modélisé les flux d'azote et l'empreinte spatiale de la filière avicole à l'échelle de la France pour l'année 2018.

1.3. Flux d'azote

Les méthodes d'analyse des flux d'azote de la filière avicole nationale sont inspirées du cadre proposé par Uwizeye *et al.* (2016). Les flux sont reconstitués à partir des bilans alimentaires FAOSTAT exprimés en masse qui sont convertis avec des teneurs en azote par produits avicoles (FAO, 2001 ; Lassaletta et al., 2014). Les productions animales incluent les viandes de volailles de chair, les œufs et les reproducteurs. La composition des rations pour volailles, est reconstituée avec un intervalle d'estimation à partir des travaux de Cordier *et al.* (2020) et Harchaoui et Chatzimpiros (2017). L'origine des tourteaux de soja et de colza est déterminée à partir de bilans de disponibilités intérieures pour chaque catégorie à l'échelle nationale. Nous supposons que les autres matières premières (MP) (grains, coproduits, résidus de culture et sous-produits agro-industriels) sont produites localement en France. L'efficacité de rétention de l'azote des volailles est estimée à partir des données FAOSTAT. Les entrées d'azote nécessaires à la production d'aliments produits en France sont calculées en supposant une efficacité d'utilisation d'azote moyenne des cultures de 70% (Lassaletta et al., 2014) et une répartition moyenne entre engrais industriels, épandage d'effluents, fixation biologique d'azote et dépôt atmosphérique d'azote à l'échelle nationale (FAOSTAT, 2021).

1.4. Empreinte spatiale

L'empreinte spatiale correspond à la somme des surfaces nécessaires à l'alimentation des volailles (Harchaoui and Chatzimpiros, 2017). L'occupation

directe des terres des bâtiments d'élevage est considérée comme négligeable. Les empreintes spatiales sont calculées en divisant la quantité de MP consommées par le rendement agricole de la culture qui fournit ces produits alimentaires (FAOSTAT, 2021). Dans le cas particulier des coproduits (en particulier les tourteaux d'oléagineux), l'empreinte spatiale de la graine est répartie entre les différents coproduits issus de la transformation de la graine via l'utilisation d'un facteur d'allocation économique conformément aux recommandations EcoAlim (Wilfart et al., 2016).

2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.1. Analyse du corpus d'études

L'analyse de la littérature met en évidence un intérêt croissant pour l'étude des systèmes intégrés de polyculture-élevage avec un nombre de publications multiplié par trois ces dix dernières années (Figure 1). L'échelle « territoires » est une déclinaison plus récente et s'inscrit dans un changement de paradigme dans les cadres d'évaluation des systèmes alimentaires. Ces derniers considèrent cette échelle pertinente car elle permet d'exploiter les particularités des contextes d'actions sociales et écologiques (Wohlfahrt et al., 2019). Les PCE à l'échelle territoriale visent à favoriser des synergies d'échange de flux de nutriments entre systèmes de culture et effluents d'élevage entre différentes exploitations agricoles éloignées dans l'espace.

L'état de l'art souligne la capacité des systèmes PCE à préserver l'état des ressources et des compartiments naturels notamment eau, air et sol ainsi que la biodiversité tout en réduisant l'utilisation de ressources fossiles (Figure 1) dans différents contextes géographiques. L'intégration de systèmes de culture et d'élevage parvient à mieux maîtriser les fuites vers l'environnement que les systèmes spécialisés en organisant la circulation des flux de nutriments du sol vers les cultures puis vers l'élevage qui à leur tour fertilisent les sols. Certains travaux ont aussi démontré une augmentation des rendements culturaux dans les systèmes intégrés par rapport aux systèmes spécialisés (Garrett et al. 2017, Ryschawy et al. 2017). Au-delà des impacts environnementaux, de nombreuses recherches ont souligné les impacts économiques et sociaux des PCE ainsi que les freins et leviers politiques nécessaires pour inciter ce type de pratiques (Garrett et al. 2020). En effet, l'intégration permet alors de réduire la demande d'intrants extérieurs, dont l'usage des pesticides (Asai et al. 2018), et donc le coût économique associé pour les exploitants. Malgré les avantages multiples des PCE, ils peuvent être plus complexes à exploiter et à gérer (Asai et al. 2018) et restent minoritaires et en voie de diminution dans les pays développés (Schut et al. 2021). Les PCE sont davantage étudiés sur les élevages bovins et petits ruminants que sur les monogastriques. En effet, les prairies sont un atout pour coupler les PCE chez les ruminants. Ainsi, tous les leviers de recouplage identifiés ne sont pas directement applicables à l'aviculture.

2.2. Flux d'azote et empreinte spatiale de la filière avicole en France

La figure 2 présente le schéma simplifié des flux d'azote dans la filière avicole en France en distinguant cinq maillons de la filière : alimentation animale, production et gestion des effluents, abattoirs, transformations et consommation nationale. Les productions avicoles représentent aujourd'hui environ 54ktN par an répartis entre 65% sous la forme de viande et 35% d'œufs. Elles comptent pour 18% des productions animales sur la base N (en comptant viandes et lait) en France. L'efficacité de rétention d'azote en produits avicoles est estimée à 25% à l'échelle de la France. L'alimentation des volailles représente 262ktN constituée principalement de MP concentrées. Un peu moins de la moitié du contenu azoté de l'alimentation des volailles (soit 130ktN) est composée de tourteaux d'oléagineux importés, pour plus de 65% en provenance du Brésil pour le soja (FAOSTAT, 2021). Une dépendance indirecte de la filière avicole se situe en amont de la production de l'alimentation animale sous la forme d'engrais industriels azotés estimés à 123kTN, ce qui représente 6% de l'utilisation nationale de fertilisants minéraux. Les pertes d'azote le long de la filière sont estimées à 148ktN par an réparties essentiellement dans l'étape de fertilisation de l'alimentation animale (35%) et dans la gestion des effluents (65%). Notre calcul est optimiste puisqu'il considère que 100ktN des fumiers et fientes de volailles sont actuellement valorisés (estimations de la FAO). Une partie des déjections des volailles participe à la fertilisation des cultures pour leur alimentation, mais les données statistiques disponibles ne nous permettent malheureusement pas de calculer cette part. En résumé, la dépendance de la filière à l'importation de tourteaux et les pertes dans les productions animales et la gestion des effluents sont les premières opportunités de bouclage des cycles d'azote à l'échelle nationale. S'ajoutent à cela les échanges internationaux de plus de 15ktN d'importations et 16ktN d'exportations typiques de l'industrie avicole en Europe qui participent au découplage des flux de nutriments entre pays.

L'empreinte spatiale de l'alimentation animale est un autre indicateur de l'impact environnemental de la filière avicole (Tableau 1). Elle est estimée à 2.1-2.6 million d'hectares (Mha), dont la moitié à l'étranger, soit l'équivalent de 7-9% de la surface agricole utile en France, proche des valeurs estimées par Dourmad *et al.*, 2019. Notons que cette comparaison est biaisée parce qu'elle ne tient

pas compte du différentiel de rendement agricole qui est de 20-25% par exemple entre la France et le Brésil pour le soja.

3. POTENTIELS DE RECONNEXION À DIFFÉRENTS MAILLONS DE LA FILIÈRE

Les flux de chaque maillon d'une filière disposent d'un potentiel de reconnexion propre. L'expression de ce dernier passe par l'augmentation de l'efficience dans son utilisation des ressources à travers un meilleur bouclage des flux. Cette logique peut aussi bien s'appliquer à l'échelle d'un ou plusieurs maillons. Dans cette partie, nous déclinons maillon par maillon une illustration non exhaustive de solutions applicables à l'aviculture.

3.1. Intrants d'élevage

L'aliment est le principal intrant des élevages. D'origine végétale, il présente un potentiel de reconnexion important et atteignable à travers plusieurs leviers. L'indice de consommation (IC), qui rend compte de l'efficience de conversion d'aliment en poids vif (PV), peut être amélioré par la génétique des animaux et les performances zootechniques des élevages. Par exemple, en poulet de chair, cet indicateur a diminué de 0.24 kg d'aliment/ kgPV) entre les années 2000 à 2020 (ITAVI, 2020). Ces dernières années, l'IC tend à se stabiliser et pourrait même se dégrader avec l'émergence de systèmes de production intégrant des souches à croissance intermédiaire. La nature des MP offre des possibilités de reconnexion par la valorisation de sous-produits issus de filières connexes. Le gain est d'autant plus intéressant (amélioration de l'IC) quand on substitue des protéines animales transformées (règlement UE 2021/1372) à des protéines végétales. Enfin, l'origine des MP (notamment protéique) et la production d'aliment à la ferme sont des leviers de reconnexion supplémentaires, bien que partiels au regard de la complexité des formulations actuelles.
Afin d'utiliser simultanément ces deux derniers leviers, l'aménagement des parcours pourrait être orienté vers la production d'aliments in-situ (vers, insectes, végétaux…). Des travaux préalables en fermes expérimentales ont démontré qu'un parcours aménagé peut représenter jusque 10% des matières sèches ingérées (par jour) et améliorer l'IC de 0.08 à 0.21 selon les saisons (projet Secalibio, 2019).
Les leviers qu'offrent l'origine et la nature des MP sont applicables à d'autres intrants d'élevages comme les matériaux de litière ou l'énergie (méthanisation, combustion de biomasse…). Cela implique une orientation des systèmes culturaux aussi bien dans le choix des variétés que des assolements des surfaces agricoles disponibles. Face à ces différents usages, la biomasse doit être envisagée comme un capital à raisonner pour trouver un équilibre inter-filières.

3.2. Atelier de production et gestion des effluents

La chaîne de gestion des effluents offre de nombreux leviers pour améliorer le bouclage des cycles et la reconnexion avec d'autres filières. Pour cela une approche systémique doit être appliquée au bâtiment, au stockage et jusqu'au retour au sol (direct ou post-traitement) des effluents. Pour le poste bâtiment, limiter les intrants alimentaires est un des plus puissants leviers. On considère que 50-70 % de l'azote ingéré se retrouve dans les déjections des volailles. Une fois excrété au bâtiment, l'azote peut occasionner des fuites sous formes gazeuses. La conservation de fumier sec (i.e. supérieur à 60% de matières sèches), le séchage de fientes et l'extraction fréquente des lisiers sont les leviers les plus utilisés pour limiter la volatilisation. Au stockage, une mise en tas des effluents solides et la couverture des effluents liquides sont à recommander. Enfin, pour l'épandage l'enfouissement des effluents doit être réalisé dans les plus brefs délais. Les solutions de gestion collective des effluents offrent un potentiel de reconnexion multifilière et générateur de valeur ajoutée. Cette plus-value peut être redistribuée dans i) des systèmes de traitements plus propres et plus conservatifs qu'un éleveur seul ne pourrait financer, ii) une exportation plus lointaine et plus diversifiée des flux de nutriments (Le Houérou, 2020).

3.3. Abattoirs

L'abattoir est un élément central de la filière et un goulot d'étranglement, puisqu'il va rassembler et transformer les volailles en produits prêts à consommer et générer de nombreux co- et sous-produits et déchets. Ces différents sortants sont répartis en trois catégories (Wilfart et al., 2021) : C1 (contaminants environnementaux, résidus de produits toxiques et d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine), C2 (contenus digestifs) et C3 (coproduits sans risques sanitaires). La catégorie C3 a trois usages principaux : les protéines animales transformées, les corps gras animaux et les aliments humides pour la petfood. Pour la France, un tiers des C3 proviennent de la volaille (Réséda, 2017). Les produits des catégories C1 et C2 sont à destination de la valorisation agronomique et énergétique. Cependant, la répartition des volumes par espèces dans les différents usages est peu disponible. Une meilleure connaissance des volumes et usages permettrait de mieux évaluer les possibilités de fermeture des cycles de nutriments à ce niveau.

3.4. Consommation nationale et échanges internationaux

Les échanges internationaux d'animaux vivants et de produits finis participent au découplage géographique des cycles de nutriments et entravent le recyclage des éléments nutritifs. À chaque volume d'échange international physique de produits animaux ou animaux vivants sous-tend également un commerce virtuel de ressources naturelles associées à la production de ces animaux et donc une empreinte alimentaire environnementale (Harchaoui and Chatzimpiros, 2017 ; Leip et al., 2015). Ces volumes d'échanges internationaux sont seulement induits par des logiques économiques sans tenir compte des coûts environnementaux associés. Du point de vue des flux d'azote (Figure 2), les importations et exportations agrégées de la France sont à peu près équivalentes autour de 15kTN par an. Cependant les types de produits sont très différents avec d'une part l'importation de produits découpés issus de poulets lourds (environ 2.5 kg de PV à l'abattage) et d'autre part du poulet export (de 1.4 kg de PV à l'abattage). Le bilan des échanges du secteur avicole en France s'est dégradé ces 20 dernières années (FranceAgriMer, 2021). Depuis 2016, le bilan d'échange des viandes de volaille est négatif en faveur d'une augmentation des importations. Alors que la France est un exportateur net d'animaux vivants de volailles, les volumes d'importations de viandes de volaille représentent plus de 37% de la consommation nationale en 2018 comparés à moins de 10% en 2000 (FAOSTAT, 2021). Le calcul des échanges nets entre flux entrants et sortants ne suffit pas pour évaluer les déséquilibres sur les cycles de l'azote. Il faut estimer les échanges totaux (somme des valeurs absolues des exportations et importations) (Harchaoui and Chatzimpiros, 2017). Dans le cas de la France, les échanges nets sont proches de 0 kTN alors que les échanges totaux sont à 31kTN soit plus de la moitié de la production nationale. Il s'agit donc pour le secteur avicole français de réorganiser la production en France et en coordination avec les partenaires européens pour qu'elle soit en adéquation avec les consommations françaises de produits avicoles. Ceci permettrait de limiter les entrées et les fuites de nutriments.

4. APPROCHE SYSTEMIQUE D'UNE TRANSITION VERS UNE AVICULTURE CIRCULAIRE

À partir des diagnostics précédents, cette partie explore une diversité de chemins de transitions.

4.1. Compromis entre autonomie protéique, empreinte spatiale, circularité des flux et attentes sociétales

Les PCE qui sont l'un des leviers pour améliorer la circularité des flux, ont pour objectif d'augmenter l'autonomie des exploitations, en particulier pour l'intrant alimentaire. L'autonomie protéique est définie comme la part des besoins en protéines des ateliers d'élevage qui est couvert par la production végétale de l'exploitation. Rappelons qu'au moins 1.25 Mha de SAU supplémentaire (plus de 4 % de la SAU nationale) devrait être dédiée à l'alimentation des volailles pour assurer l'autonomie protéique de la filière avec les rendements actuels de soja en France. De plus, ce déficit cache des situations contrastées. Certaines exploitations sont dans des schémas d'import/ export de l'intégralité de leurs aliments/ effluents alors que d'autres sont proches d'une autonomie protéique. Les disponibilités en termes de SAU nationale et la spécificité des formes et le contenu des intrants alimentaires font que la PCE ne peut, en l'état, être déclinée à l'ensemble des ateliers avicoles. Toutefois, l'organisation des filières de production peut être un atout en vue de traiter cette problématique dans une approche territoriale. Cette nouvelle dimension peut offrir une réorganisation équilibrée des flux d'aliments, d'effluents et de litières à une échelle géographique supérieure. Le tableau 2 présente des exemples pour produire une plus grande partie des MP alimentaires à la ferme ou dans des synergies collectives territorialisées. Le choix entre ces différentes solutions est fonction du contexte : SAU disponible sur l'exploitation, appartenance à un organisme de production ou à une coopérative. Souvent ces initiatives sont la conséquence de cahiers des charges qui mettent en avant des aspects qualitatifs des MP alimentaires (provenance, sans OGM ou encore non déforestant). Ces clauses de production induisent une relocalisation, à minima partielle, des productions animales et végétales. Aujourd'hui l'autonomie protéique se trouve concurrencée par d'autres usages de la biomasse (énergies et litières).
Par ailleurs, d'autres tensions apparaissent entre le bouclage des flux et l'intégration d'autres contraintes de production, comme les aspects réglementaires, ou les attentes sociétales en matière de bien-être animal. Entre 2000 et 2020, les effectifs de poules pondeuses ayant accès à un parcours sont passés d'environ 16 à 50%. D'après le BREF (2017), les élevages sur parcours émettraient 10% d'ammoniac en plus comparés à des systèmes claustrés.
La solution la plus adaptée pour une transition vers une aviculture plus circulaire doit toujours être trouvée en concertation avec les acteurs locaux et adaptée aux contraintes des territoires et des filières impliquées. Cela passe par l'identification et la quantification des gains environnementaux et/ ou économiques de ces nouvelles façons de produire.

4.2. Enjeux de gouvernance territoriale

La transition agroécologique des filières avicoles nécessite la mise en œuvre d'innovations techniques et de changements organisationnels impliquant des formes nouvelles de gestion

collective et de gouvernance territoriale. Les illustrations précédentes montrent la nécessité de développer les efforts de recherche dans la modélisation de l'articulation des changements par les filières et ceux engagés par les territoires. En effet, un ensemble d'exploitations optimisées n'est pas l'assurance d'un territoire optimisé.

Cette gouvernance territoriale nécessite alors de se doter d'outils pour anticiper les changements à très long terme pour pouvoir piloter et adapter les chemins de transition en favorisant les interactions entre les ateliers volailles et les autres systèmes agricoles dans le territoire. Cette réorganisation doit pouvoir être pilotée avec des approches ascendantes et descendantes (Garrett et al., 2020 ; Lasseur et al., 2019). Des analyses récentes ont montré l'intérêt de donner ce rôle à un acteur tiers qui soit responsable de l'organisation des flux et l'usage des sols agricoles ou de promouvoir des systèmes de gouvernance multi-niveaux pour renforcer la coordination entre filières et territoires (Madelrieux et al., 2017). Ce rôle ne peut être directement porté par les aviculteurs à l'instar des PCE en système ruminant (déficit structurel de SAU, peu de maitrise sur l'aliment). Il ne peut être non plus uniquement porté par la filière avicole qui dans son modèle intègre à la marge la gestion des effluents et les productions végétales. Dès lors, il ne reste pour porter cette transition qu'un consortium de filières agricoles soutenus par les coopératives et les politiques. Ces changements d'organisation dans l'espace et dans le temps peuvent aussi être facilités par l'accès et le partage des données sur les ressources et flux de nutriments, détaillant les quantités qualités et spatialisations, qui seraient publiées par des observatoires à l'échelle du territoire. Pour l'aviculture, les chemins de transitions doivent intégrer des approches multicritères, allant au-delà des impacts sur les cycles biogéochimiques et du cycle de l'azote mis en avant dans cette synthèse, mais aussi les impacts sur l'usage des sols, de l'eau, énergétiques et économiques. L'amélioration des méthodes d'évaluations, notamment de l'analyse de cycle de vie, pour mieux intégrer les contraintes et les perspectives des différentes échelles locale, nationale et filière est une priorité dans la mise en œuvre de la transition agroécologique (Figure 3).

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les enjeux de transition agroécologique conduisent à identifier les postes de gestion des effluents et de l'alimentation animale comme les principaux leviers de reconnexion entre systèmes d'élevage et systèmes de cultures aux échelles de l'exploitation et des territoires. Cette mise en pratique d'une reconnexion en aviculture nécessite une concertation multi-acteurs et un décloisonnement des filières pour faire émerger un pilotage systémique de circularité des flux de nutriments entre grandes cultures et élevage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agreste, 2013. L'alimentation animale, principale destination des productions végétales (No. 208), Collection Agreste Primeur. Agreste - La statistique agricole, Montreuil-sous-Bois.

Asai, M., Moraine, M., Ryschawy, J., de Wit, J., Hoshide, A.K., Martin, G., 2018. Land Use Policy 73, 184–194.

Bonaudo, T., Bendahan, A.B., Sabatier, R., Ryschawy, J., Bellon, S., Leger, F., Magda, D., Tichit, M., 2014. Eur. J. Agron. 57, 43–51.

Brachet, M, Germain, K, 2019. Parcours à haute valeur protéique, essais conduits sur volailles de chair à l'INRA du Magneraud. Casdar Secalibio (2015- 2019).

BREF élevage, 2017. Décision d'exécution (UE) 2017/302 établissant les conclusions sur les meilleures techniques disponibles pour l'élevage intensif de volailles ou de porcs. JO de l'UE du 21/02/2017. L43/231 – L43/279.

Cordier, C., Sailley, M., Courtonne, J.Y., 2020. Analyse des flux de matières premières en alimentation animale en France. GIS Avenir Elevage.

Dourmad, J.-Y., Guilbaud, T., Tichit, M., Bonaudo, T., 2019. INRA Prod. Anim. 205–220

FAO, 2001. FOOD BALANCE SHEETS - A Handbook, Food and Agriculture Organization of the United Nations,. Rome.

FAOSTAT, 2021. FAO statistical database. The Food and Agriculture Organization of the United Nations., Rome.

FranceAgriMer, 2021. Compétitivité de la filière française volaille.

Garrett, R.D., Niles, M.T., Gil, J.D.B., Gaudin, A., Chaplin-Kramer, R., Assmann, A., Assmann, T.S., Brewer, K., de Faccio Carvalho, P.C., Cortner, O., Dynes, R., Garbach, K., Kebreab, E., Mueller, N., Peterson, C., Reis, J.C., Snow, V., Valentim, J., 2017. Agric. Syst. 155, 136–146.

Garrett, R.D., Ryschawy, J., Bell, L.W., Cortner, O., Ferreira, J., Garik, A.V.N., Gil, J.D.B., Klerkx, L., Moraine, M., Peterson, C.A., dos Reis, J.C., Valentim, J.F., 2020 Ecol. Soc. 25, art24.
Harchaoui, S., Chatzimpiros, P., 2017. Land Use Policy 67, 378–386.
ITAVI, 2013. Estimation des rejets d'azote, phosphore, potassium, calcium, cuivre et zinc par les élevages avicoles, 63p.
ITAVI, 2020 Performances techniques et coûts de production en volailles de chair, résultats 2019, 35p.
Lassaletta, L., Billen, G., Grizzetti, B., Garnier, J., Leach, A,, Galloway, J, 2014. Biogeochemistry 118, 225–241
Lasseur, J., Bonaudo, T., Choisis, J.-P., Houdart, M., Napoléone, M., Tichit †, M., Dedieu, B., 2019. INRA Prod. Anim. 189–204.
Le Houérou, A., 2020. Mémoire de stage : Évaluation d'un modèle d'économie circulaire appliqué à l'élevage avicole. Université de Rouen, 53p.
Leip, A., Billen, G., Garnier, J., Grizzetti, B., Lassaletta, L., Reis, S., Simpson, D., Sutton, M.A., de Vries, W., Weiss, F., Westhoek, H., 2015. Environ. Res. Lett. 10, 115004.
Lemaire, G., Franzluebbers, A., Carvalho, P.C. de F., Dedieu, B., 2014. Agric. Ecosyst. Environ. 190, 4–8.
Madelrieux, S., Buclet, N., Lescoat, P., Moraine, M., 2017. Cah. Agric. 26, 24001
Martel, 2017. Fourrages, 231, 235-245.
Martin, G., Moraine, M., Ryschawy, J., Magne, M.-A., Asai, M., Sarthou, J.-P., Duru, M., Therond, O., 2016. Agron. Sustain. Dev. 36, 53.
Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G., BMJ 339, b2535–b2535.
Moraine, M., Duru, M., Nicholas, P., Leterme, P., Therond, O., 2014. Animal 8, 1204–1217.
Moraine, M., Ramonteu, S., Magrini, M.-B., Choisis, J.-P., 2019. Innovations Agronomiques 72, 45-59.
OECD, 2021. OECD-FAO Agricultural Outlook. 2021-2030.
Réséda, 2017. Enquête 2017: Gisements et valorisations des coproduits des industries agroalimentaires, 121p.
Russelle, M.P., Entz, M.H., Franzluebbers, A.J., 2007. Agron. J. 99, 325–334.
Ryschawy, J., Benoit, M., Hostiou, N., Delfosse, C., 2018. INRA Prod. Anim. 30, 363–380.
Ryschawy, J., Joannon, A., Gibon, A., 2014 Cah. Agric. 23, 346–356.
Ryschawy, J., G. Martin, M. Moraine, M. Duru, and O. Therond. 2017. Nutr Cycl Agroecosyst 108:5-20.
Schut, A.G.T., Cooledge, E.C., Moraine, M., Van De Ven, G.W.J., Jones, D.L., Chadwick, D.R., 2021. Front. Agric. Sci. Eng. 8, 111.
Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, Rosales, M., de Haan, C., 2006. Livestock's long shadow: environmental issues and options. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
Uwizeye, A., Gerber, P.J., Schulte, R.P.O., de Boer, I.J.M., 2016. J. Clean. Prod. 129, 647–658.
Wilfart, A., Espagnol, S., Dauguet, S., Tailleur, A., Gac, A., Garcia-Launay, F., 2016 PloS One 11.
Wilfart, A., Gac, A., Salaün, Y., Aubin, J., Espagnol, S., 2021. Clean. Environ. Syst. 2, 100028.
Wilkins, R.J., 2008. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 363, 517–525.
Wohlfahrt, J., Ferchaud, F., Gabrielle, B., Godard, C., Kurek, B., Loyce, C., Therond, O., 2019J. Clean. Prod. 232, 898–909

Figure 1. Classification des études portant sur les systèmes de polyculture-élevage selon (a). les échelles (b). les ressources (c). les dimensions non environnementales (d). les filières. *La catégorie Autres dans le panel (c) inclut les études qui portent sur d'autres dimensions telles que la gestion des connaissances des agriculteurs, les stratégies de contrôle des mauvaises herbes, la santé et le bien-être animal

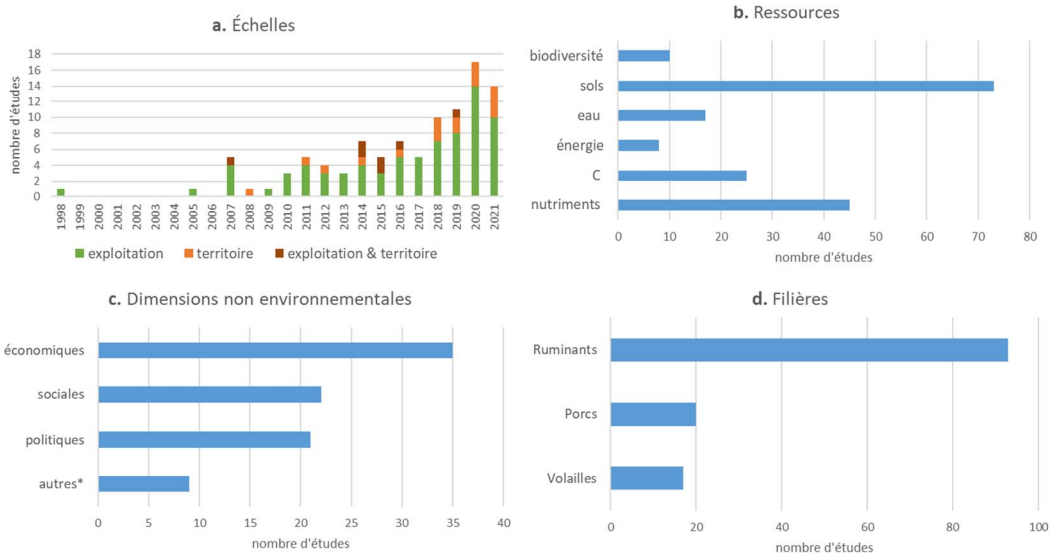
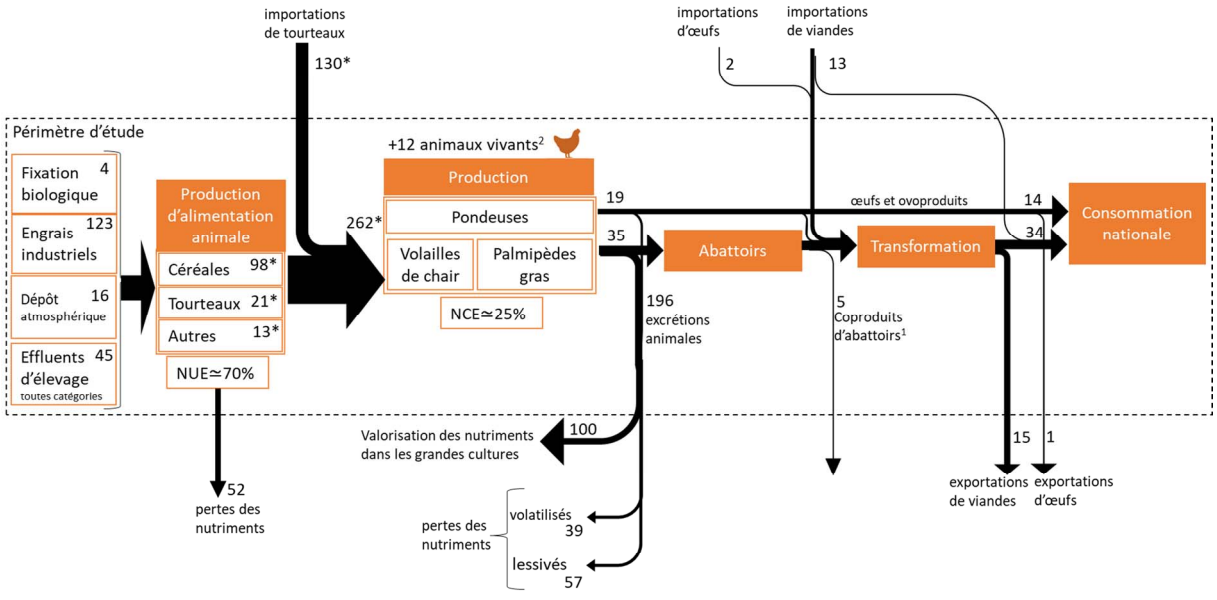


Figure 2. Schéma simplifié des flux d'azote exprimés en ktN·an^{-1} à l'échelle de la France pour l'année 2018. NUE et NCE sont respectivement l'efficience d'utilisation de l'azote des cultures et l'efficacité de rétention de l'azote des aliments par les volailles. [1]Les flux associés aux sous-produits d'abattoirs sont assortis d'une plus grande incertitude. Les pertes dans la distribution et la consommation ne sont pas incluses par manque de données.[2]Azote stocké dans les effectifs en cours de production.



*Flux d'alimentation animale estimés à partir de Harchaoui et Chatzimpiros (2017). Voir Tableau 1 pour l'estimation à partir de Cordier et al. (2020)

Figure 3. Différents niveaux d'organisation des échanges de flux (territoire, filière et inter-filières)

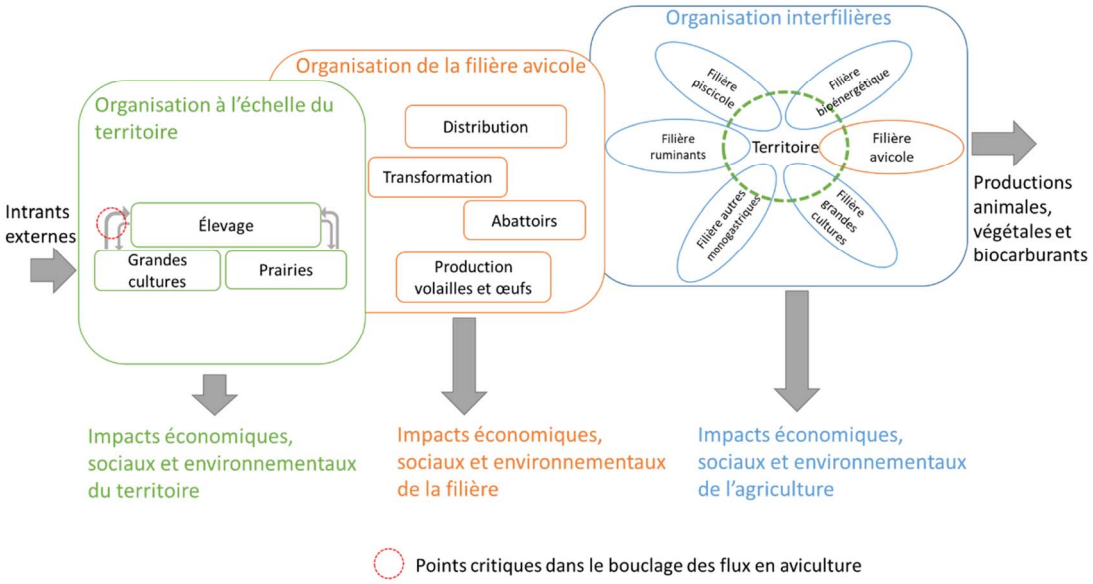


Tableau 1. Composition de l'alimentation animale des productions avicoles en France et empreinte spatiale pour l'année 2018. L'intervalle de calcul est estimé selon (Harchaoui et Chatzimpiros, 2017) et (Cordier et al. 2020).
[1]Autres produits incluent aliments concentrés d'origine animale, additifs et sels minéraux.

Alimentation animale	ressources	contenu azoté	part N importé	empreinte spatiale en France	empreinte spatiale à l'étranger	empreinte spatiale totale
catégories	000 t matière sèche à 85%	kT N	%	Mha	Mha	Mha
Céréales	[4 938 ; 7 572]	[98 ; 114]	0	[0,81 ; 1.24]	0,00	[0,81 ; 1.24]
Oléoprotéagineux	[211 ; 346]	[8 ; 12]	46	[0,05 ; 0.09]	[0,03, 0.04]	[0,09 ; 0.13]
Tourteaux	[2 113 ; 2 482]	[149 ; 153]	86	[0.20 ;0.24]	[0,96, 0.99]	[1,17 ; 1.23]
Autres produits[1]	[500 ; 920]	[5 ; 22]	ND	ND	ND	ND
Total	[7 761 ; 11 320]	[262 ; 301]	50	[1,07 ; 1.57]	[0,99 ; 1.03]	[2,06 ; 2,60]

Tableau 2. Exemple de stratégies pour améliorer l'autonomie alimentaire des exploitations avicoles

Stratégie	Descriptif
Le « mouture à façon »	Les organismes de production ou coopératives peuvent proposer à leur adhérents un rachat de leurs céréales (maïs ou blé) à un prix fixe convenu pour une certaine durée, souvent 5 ans, ainsi l'aviculteur envoie sa céréale brute et reçoit en échange des granulés (contenant environ 30 à 40% de la céréale cultivée). Ce système permet en outre d'amortir les fluctuations des prix des matières premières qui sont néfastes à l'ensemble de la filière.
Production d'une part de la ration à la ferme	Certains fabricants d'aliments à la ferme produisent une partie de la ration à la ferme (des céréales pour environ 60%) et achètent au fabricant d'aliments des compléments alimentaires (40% de la ration). Cas des éleveurs de poulet label rouge dans le sud-ouest.
Production d'une part de la ration à la ferme	Pour les éleveurs de pondeuses, une alimentation alternée sur 24 h, par exemple blé entier le matin et compléments alimentaires l'après-midi est envisageable, cette solution ne nécessite pas d'investissement en matériel de granulation (granulation non nécessaire).
Production de l'intégralité de l'alimentation à la ferme	Ce modèle existe presque uniquement pour les éleveurs de pondeuses qui n'ont pas besoin de granulés, l'exploitant dispose de silos de ses céréales, de CMV (Composés Minéraux et Vitamines), et de concentrés protéinés et réalise lui-même son mélange. Il n'est pas nécessaire d'être dans un OP ou une coopérative pour mettre en place ce système.

SESSION

DURABILITE – ENVIRONNEMENT

Communications orales

EFFET DU MODE DE GESTION DES FIENTES DE POULES PONDEUSES SUR LES EMISSIONS D'AMMONIAC PENDANT LEUR STOCKAGE

Loyon Laurence, Fabrice Guiziou, Martine Sarrazin, Guillaume Nunes, Andrés F. Gonzalez-Mora

INRAE UR OPALE - 17 avenue Cucillé -35044 RENNES
laurence.loyon@inrae.fr

RÉSUMÉ
Selon les derniers inventaires nationaux, le secteur agricole est la principale source d'ammoniac en France dont plus de 70% sont issus des élevages. Pour le secteur avicole, il existe peu de données sur les émissions d'ammoniac au cours du stockage des fientes de poules pondeuses élevées en cages aménagées ou en volières. L'objectif de cette étude est donc de comparer les émissions d'ammoniac au cours du stockage, sous conditions contrôlées de laboratoire, des fientes de poules pondeuses issues de mode de logement distinct (volière avec un séchage extérieur et cages aménagées avec pré-séchage). Différentes conditions de stockage ont été testées : (i) niveau de séchage des fientes, (ii) volume stocké et (iii) re-humidifcation des fientes sèches. Nos résultats montrent que plus les fientes sont sèches à l'entrée du stockage plus les pertes en azote sont faibles (0.0 vs 40% de pertes pour 89 vs 40% de MS ; $p<0.05$). Par contre, toute ré-humidification des fientes séchées relance le processus de volatilisation de l'ammoniac. De plus, la quantité de fientes dans un volume de stockage donné impacte les pertes azotées: à volume constant, un poids de fientes plus élevé (1.3, 1.8 et 2.4 kg) réduit les pertes en azote (7 vs 46% de pertes; $p<0.05$). Ces résultats suggèrent d'éviter le stockage des fientes sèches dans un environnement propice à la condensation hydrique, de favoriser le stockage de grandes quantités avec un séchage de la surface du tas et d'éviter une mise en tas répétée sur une même zone.

ABSTRACT
Effect of the management of laying hen droppings (aviaries, enriched cages) on ammonia emissions during storage
According to the latest national inventories, the agricultural sector is the primary source of ammonia in France, more than 70% of which comes from livestock farming. There are little data on ammonia emissions during the storage of laying hen droppings reared in enriched cages or aviaries for the poultry sector. Therefore, the objective of this study is to compare the ammonia emissions during the storage, under controlled laboratory conditions, of the droppings of laying hens from different types of housing (aviary with external drying and enriched cages with pre-drying). Different storage conditions were tested: (i) level of drying, (ii) volume stored, and (iii) re-wetting of the dry droppings. Our results show that the drier the droppings are at the entrance to the storage, the more nitrogen losses are low (0.0 vs 40% loss for 89 vs 40% DM; $p<0.05$).In contrast, any re-wetting of the dried droppings restarts the ammonia volatilization process. In addition, the amount of droppings in a given storage volume impacts nitrogen losses: at constant volume, a higher weight of droppings (1.3, 1.8, and 2.4 kg) reduces nitrogen losses (7 vs 46% loss; $p<0.05$). These results suggest some recommendations: (i) avoiding the storage of dry droppings in s an environment conducive to water condensation, (ii) promoting the storage of large quantities with drying of the surface of the heap, and (iii) avoiding repeated heaping in the same area.

INTRODUCTION

Les élevages de poules pondeuses contribuent avec les autres productions animales aux émissions agricoles d'ammoniac (NH_3) estimées en France à 556 kt en 2018 (CITEPA, 2020). Ces émissions de NH_3, dues à la volatilisation de l'azote excrété dans les effluents, sont liées aux postes d'émission des déjections (bâtiment, stockage et épandage) et sont encadrées par différentes réglementations internationales, européennes et nationales. La directive européenne NEC (National Emission Ceilings) fixe pour 2030 un objectif de réduction d'émissions de NH_3 de 13% par rapport à 2005 pour la France. Pour atteindre cet objectif, différentes modalités d'abattement des émissions d'ammoniac liées à la gestion des effluents sont proposées au titre du Plan national de réduction des Emissions de Polluants Atmosphérique (ADEME, 2020) et dans le guide des Bonnes Pratiques Environnementales d'Elevage édité par le RMT élevage et Environnement (RMT Élevage et Environnement, 2019). Pour les élevages de poules pondeuses, l'évacuation fréquente ou le séchage des fientes produites dans les bâtiments est une des techniques permettant de limiter les émissions d'ammoniac (ITAVI, 2013). Ces dernières années, les systèmes d'élevage des poules pondeuses ont évolué vers des modes de production hors cage afin de correspondre à la réglementation européenne (Directive 1999/74/CE). En France, 58 % des poules pondeuses étaient logées en cages aménagées en 2018 (ITAVI, 2020). Le type de logement modifie les caractéristiques et les quantités des fientes à stocker du fait de conditions de production (tapis, gisoir…) et de gestion (tapis d'évacuation, gisoir, séchage par ventilation des tapis…) différentes à l'intérieur du bâtiment. Cependant, il existe peu de données sur les émissions d'ammoniac au cours du stockage des fientes de poules pondeuses élevées en cages aménagées ou en volières (JRC, 2017). L'objectif de cette étude est donc de comparer les émissions d'ammoniac au cours du stockage, sous conditions contrôlées de laboratoire, des fientes de poules pondeuses (i) élevées en système volière avec un séchage extérieur et (ii) élevées en cages aménagées avec pré séchage en bâtiment et évacuation des fientes par tapis.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Sélection des élevages

Deux élevages de poules pondeuses ont été sélectionnés: l'élevage (E1) en système volière avec pré-séchage « naturel » au bâtiment et évacuation par tapis pour un séchage extérieur et l'élevage (E2) avec cages aménagées avec pré-séchage forcé par ventilation des tapis appelé séchage « dynamique » au bâtiment et tapis d'évacuation des fientes vers un hangar de stockage extérieur (Tableau 1).

1.2. Modes de gestion des fientes étudiées

L'impact de différents paramètres concernant les modalités de stockage des fientes séchées ou pré-séchées a été évalué : (i) Impact du niveau de séchage des fientes au moment du stockage en comparant les émissions de NH_3 des fientes pré-séchées « naturellement » dans le salles et en sortie du sécheur extérieur de l'élevage E1 à celles pré-séchées « dynamiquement » de l'élevage E2 en sortie de bâtiment; (ii) Impact de la quantité de fientes à volume de stockage constant en comparant les émissions de NH_3 de trois quantités de fientes pré-séchées de l'élevage E2 (1.3, 1.8 et 2.4 kg); (iii) Impact de la ré-humification des fientes séchées de l'élevage E1 par ajout en laboratoire d'un volume connu d'eau. En effet, avant reprise par une entreprise extérieure ou épandage, les fientes séchées sont généralement stockées dans un hangar semi ouvert enclin aux conditions climatiques.

1.3 Caractérisation physico-chimique des fientes

Les fientes ont été prélevées pour l'élevage E1 en sortie des salles et en sortie de sécheur et pour l'élevage E2 en sortie du bâtiment. Une analyse de l'azote ammoniacal (NH_4^+), de l'azote total (NTK) et des matières sèches (MS) des fientes a été réalisée au laboratoire de l'UR INRAE OPALE selon des méthodes normalisées. Ces mêmes analyses ont été effectuées à la fin du stockage expérimental des fientes afin de déterminer les pertes en azote dues à la volatilisation de l'ammoniac.

1.4 Evaluation des émissions d'ammoniac au cours du stockage des fientes

L'évaluation des émissions d'ammoniac au cours du stockage des fientes a été effectuée sur le banc de l'UR INRAE OPALE (Figure 1) constitué d'un plateau de 12 cellules de stockage de 5 litres permettant une étude comparative des émissions de NH_3 en conditions contrôlées de vitesse d'air et de température sur une durée d'environ 6 semaines (Hassouna et al., 2015, fiche 20). Trois répétitions (3 cellules) pour chaque type de fiente ou modalité de gestion étudiée ont été effectuées.

Figure 1 : Plateau expérimental de mesures des émissions de NH_3 au stockage



Les émissions d'ammoniac ont été déterminées par un bilan de masse en comparant les quantités d'azote total (NTK) avant et après le stockage expérimental

des fientes. Des analyses ponctuelles de l'air sortant des cellules par des pièges acides (Hassouna et al 2015, fiche 3) ont permis de valider que les pertes en azote total étaient sous forme d'ammoniac. Il est donc possible d'assimiler les pertes en azote, exprimés en % du NTK initial comme les pertes d'ammoniac.

1.5 Analyses Statistiques

L'effet des différentes modalités de stockage des fientes sur les émissions de NH_3 a été évalué statistiquement sur les données de chaque série de trois répétitions à l'aide du test non paramétrique Kruskal-Wallis avec une probabilité de 95% ($p<0.05$) avec le logiciel Statgraphics Centurion 16.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 1 regroupe les caractéristiques des fientes issues des deux systèmes d'élevage étudiés ainsi que les pertes en azote au cours de leur stockage.

2.1 Caractéristiques physico-chimique des fientes

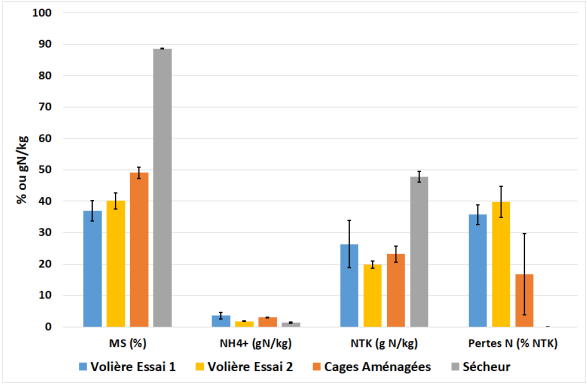
Selon Quideau (2010), le taux de matières sèches (MS) des fientes de poules pondeuses évolue en moyenne de 30 % (fientes fraiches) à 78 % après séchage. Les valeurs de cette étude sont dans cette fourchette (en moyenne 40% avant séchage pour l'élevage E1 et 49% pour l'élevage E2) quoique plus élevées pour le sécheur extérieur (89% de MS). Comme attendu, le séchage augmente la teneur en matière sèches des fientes (+135%) ainsi que celle du NTK (+107%) par concentration des matières suite à l'élimination de l'eau des fientes. Par contre, la teneur en NH_4^+ n'augmente pas du fait d'une perte en NH_3 (données non reportées ici) au cours du séchage extérieur. L'effet du système d'élevage sur les caractéristiques des fientes en sortie de bâtiment varie selon la période de prélèvement dans l'élevage en volière. Aussi, selon la période de prélèvement, les résultats en laboratoire indiquent des différences significatives ($p<0.05$) ou non ($p>0.05$) entre les deux types de logement. Ceci pourrait s'expliquer par la variabilité des conditions de gestion des salles/bâtiment (température et taux d'humidité) qui dictent les taux de ventilation et donc du pré-séchage ou encore l'évolution au cours de l'année de l'alimentation des poules qui affecte l'excrétion azotée.

2.2 Impact du mode de gestion des fientes sur les émissions de NH_3

2.2.1 Impact de la gestion des fientes au bâtiment sur les pertes en azote au cours du stockage

Seules les fientes séchées par un sécheur extérieur n'émettent pas de NH_3 au stockage (Figure 2).

Figure 2: Effet de la gestion des fientes au bâtiment sur les pertes en azote au cours du stockage



Une différence significative de teneur en NH_4^+ entre les deux essais pour l'élevage E1 est observée (3.6 vs 1.8 mg N/kg; $P< 0.05$) mais n'impacte pas les pertes en azote. Ceci s'explique par la teneur en acide urique (non quantifiée) qui constitue la majeure partie de l'azote total des fientes (Groot-Koerkamp, 1994). L'acide urique se transforme et augmente la teneur en NH_4^+ qui se volatilise à la surface du stockage. Dans le cas du séchage extérieur, le faible taux d'humidité ne permet pas la décomposition de l'acide urique pour libérer de l'ammoniac.

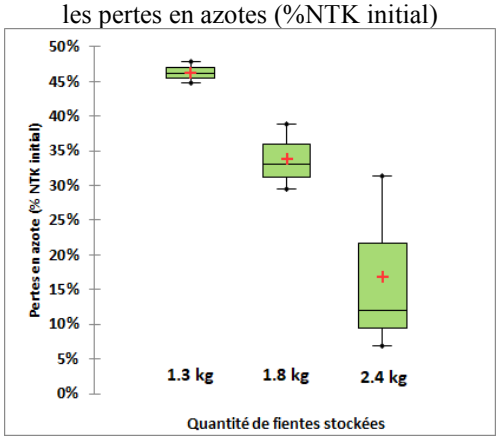
Le système d'élevage et de pré-séchage des fientes n'a pas d'effet sur les pertes en azote (Figure 2). Ceci s'explique par la forte variabilité des résultats, particulièrement élevée pour l'essai avec les fientes des cages aménagées (élevage E2), peut être due en partie à l'hétérogénéité des échantillons de fientes contenant des plumes et des graines. Cette hétérogénéité impacte fortement les émissions de NH_3 en créant des chemins préférentiels pour sa diffusion. Néanmoins, il serait nécessaire d'avoir un nombre similaire de mesures entre les deux systèmes de logement pour valider cette hypothèse. En effet, cette tâche a été impactée par la situation sanitaire Covid qui n'a pas permis de faire tous les prélèvements prévus sur l'élevage E2 en cages aménagées. Aussi, les résultats sont à considérer avec précaution du fait du déséquilibre dans le nombre d'échantillons entre les deux systèmes d'élevage.

2.2.2 Impact de la quantité de fientes stockées sur les pertes en azote

Les résultats sont illustrés Figure 3. Il apparait que plus la quantité de fientes est élevée plus les pertes en azote sont significativement faibles (46.3, 33.8, 16.8 % de pertes pour 1.3, 1.8 et 2.4 kg de fientes, respectivement, $p< 0.05$). Cet impact de la quantité stockée plus élevée s'explique par une limitation de la diffusion de l'azote vers la surface du stockage et probablement la saturation en NH_3 du volume vide au-dessus du stockage qui limite la volatilisation. Cette saturation peut se rencontrer sur site si les conditions de ventilation ne permettent pas de renouveler correctement l'air du site de stockage. Un

assèchement plus important de la surface du stockage (au plus près du flux d'air pour la quantité de 2.4 kg) peut aussi expliquer cette réduction des émissions du NH_3.

Figure 3. Effet de la quantité de fientes stockées sur les pertes en azotes (%NTK initial)



2.2.3 Impact de la gestion des fientes séchées au stockage (ré-humidification)

Les fientes séchées du système en volière ont été humidifiées afin d'obtenir le même taux de MS que les fientes arrivant au sécheur (environ 35% MS). En comparant les données du stockage des fientes du sécheur (aucune perte), il apparait que l'humidification des fientes séchées relance les pertes azotées (tableau 2) en relançant la transformation de l'acide urique en NH_4^+/NH_3. Ce résultat indique que les fientes séchées doivent être stockées dans un lieu où la condensation hydrique est limitée.

CONCLUSION

Ces essais menés en laboratoire ont permis d'appréhender l'impact de la gestion des fientes de poules pondeuses sur les émissions d'ammoniac au stockage. Il a pu être mis en évidence que plus les fientes sont sèches et plus les pertes en azotes sont faibles. En revanche, toute ré-humidification des fientes relance le processus de volatilisation de l'ammoniac. Egalement, la quantité de fientes dans un volume de stockage donné impacte les pertes azotées. A volume constant, une quantité plus importante de fientes réduit les pertes en azote. Ces résultats suggèrent quelques recommandations opérationnelles sur la gestion des fientes au stockage. Pour les fientes sèches, il convient d'éviter leur stockage dans un environnement propice à la condensation hydrique et d'éviter leur épandage par temps humide ou sol humide ou alors suivi d'un enfouissement immédiat. Pour le stockage des fientes pré-séchées, il est nécessaire de favoriser un lieu de stockage peu ventilé et de dimensions adaptées aux quantités stockées (pas de grand volume vide) en évitant une accumulation de NH_3 au-delà des conditions de protection des travailleurs (10 à 20 ppm selon la durée d'exposition préconisée par l'Inrs, en privilégiant un stockage fermé avec évents et équipé de détecteurs de NH_3). Il s'agira également de favoriser une forte quantité stockée avec un séchage de la surface du tas en évitant une mise en tas répétée sur une même zone.

REMERCIEMENT

Ce projet a été conduit dans le cadre collaboratif d'un projet financé par l'ADEME (AAP CORTEA 2017 ; Projet FLAPP n°1703C0013) impliquant l'ITAVI, l'INRAE et la CRAB. Les partenaires du projet remercient également les éleveurs qui ont participé à ce projet.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ademe 2020. Le guide des bonnes pratiques pour améliorer la qualité de l'air.
Citepa 2020. Rapport Secten édition 2020.Émissions de gaz à effet de serre et de polluants atmosphériques en France.Agriculture et sylviculture
Hassouna M., Eglin T., Cellier P., Colomb V., Cohan J-P et al. 2015. Mesurer les émissions gazeuses en élevage : gaz à effet de serre, ammoniac et oxydes d'azote.
Inrs 2021. Liste des VLEP françaises. Valeurs limites d'exposition professionnelle établies pour les substances chimiques
Itavi 2013. Estimation des rejets d'azote, phosphore, potassium, calcium, cuivre et zinc par les élevages avicoles. Mise à jour des références CORPEN-Volailles de 2006.
Itavi 2020 Situation du marché des oeufs et ovoproduits. Édition avril 2020.
JRC 2017. Best Available Techniques (BAT) Reference Document for the Intensive Rearing of Poultry or Pigs.
Groot-Koerkamp, 1994. J. Agric. Eng. Res. 59, 73–87.
RMT Élevage et Environnement 2019. Guide des bonnes pratiques environnementales d'élevage.
Quideau, P. 2010. Les effluents d'élevage, les coproduits de traitement et leurs incidences environnementales In Elevages et environnement. Editions Quae.

Tableau 1. Caractéristiques des élevages et gestion des fientes

Elevage	Description
Système volière Pré-séchage « naturel » en bâtiment + séchage extérieur	- 120 000 poules dans 2 x 2 salles d'élevage (superposées) - 3 blocs de volières par salle de 30 000 poules pondeuses - Extraction quotidienne salle par salle des fientes avec 2 tapis d'accumulation des fientes par bloc de volières - Sécheur de fientes sur 4 niveaux (Long. :24 m x Larg. : 3 m) ; 288 m^2 de surface totale de plaques métalliques perforées ; Processus de séchage à l'aide d'une partie de l'air canalisé provenant des 4 salles - Fientes séchées stockées pour une courte durée (< 4 semaines) avant reprise par une entreprise extérieure
Cages Aménagées Séchage « dynamique » en bâtiment + stockage extérieur	- 60 000 poules pondeuses dans 1 bâtiment de 6 batteries de cages aménagées sur 2 étages - Gaine de séchage des fientes avec l'air du bâtiment au niveau des tapis récupérateurs de fientes présents sous les cages de chaque batterie - Evacuation des fientes pré-séchées tous les 2/3 jours vers un hangar de stockage fermé sur trois côtés - Reprise de la totalité des fientes séchées par une entreprise extérieure

Tableau 2. Caractéristiques des fientes et pertes en azote au cours de leur stockage

	Volières				**Cages aménagées**
	Essai 1*	Essai 2**	Sécheur	Sécheur + réhumidification	
MS (%)	36,9 (3,3)	40,1 (2,7)	88,6 (0,1)	35,1 (0,1)	49,1 (1,9)
NTK (gN/kg)* **	26,4 (7,4)	19,8 (1,1)	47,8 (7,5)	32,8 (1,1)	23,2 (6,4)
NH_4^+ (gN/kg)	3,6 (1,1)	1,8 (0,1)	1,4 (1,1)	0,8 (0,1)	3 (1,1)
Pertes N (% NTK initial)	35,8 (3,2)	39,8 (4,9)	nd	43,7 (7,5)	16,8 (12,9)

Entre parenthèses : Ecart-type ; (*) moyenne de 4 salles ; (**) moyenne de 2 salles ; (***) Azote Total Kjeldahl (nd) non détect

UTILISATION DES DESINFECTANTS DU COUVOIR A L'ABATTOIR, QUELS RISQUES POUR LA SANTE DES UTILISATEURS ?

Rousset Nathalie[1], Battaglia Antoine[1], Galliot Pascal[1], Pertusa Marion.[1], Ruch Marion.[2], Le Bouquin-Leneveu Sophie[3], Huneau Adeline[3], Balaine Loïc[3], Riolland Claire[4], Soumet Christophe[5], Carpentier Patrice[6], Griveau Gildas[4]

[1]ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonière, 75009 Paris, France
[2] Chambre d'Agriculture de Bretagne, Cometias 6 rue de Ronsouze - BP24, 56801 Ploërmel, France
[3] Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané Niort, 22440 Ploufragan, France
[4] MSA d'Armorique, 12 rue de Paimpont, 22025 Saint-Brieuc Cedex 1, France
[5] Anses, Laboratoire de Fougères, Bâtiment Bioagropolis, 10B Rue Claude Bourgelat, 35133 Javené, France
[6] Anses, DEPR, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort Cedex, France

rousset@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ
Pour les filières avicoles, les désinfectants sont indispensables à la maîtrise sanitaire. Leur manipulation peut cependant être à l'origine d'accidents ponctuels si des mesures de protection ne sont pas prises, mais également avoir des effets chroniques pour la santé. Afin de cibler et d'adapter les actions de prévention, une étape du projet aDAPt visait à objectiver ces risques pour la santé des utilisateurs, du couvoir, au transport des animaux vers l'abattoir. Une enquête réalisée auprès de 12 couvoirs, 19 ateliers de gavage, 6 élevages de palmipèdes, 25 élevages de poulets et 16 abattoirs, a permis de décrire les produits de désinfection utilisés (spécialités commerciales, fiche de données sécurité, quantités utilisées), et leurs conditions d'utilisation (matériels, procédés, environnement de travail). Des évaluations de risques résiduels par inhalation et par contact cutané ou oculaire ont été réalisées à l'aide du logiciel Seirich (niveau 2). Toutes entreprises confondues, et sur l'ensemble des tâches répertoriées, le niveau de risque résiduel par inhalation est élevé dans 41 % des cas; et celui par contact cutané ou oculaire, dans 38 % des cas. Le maillon élevage présente une part importante de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par inhalation ou par contact cutané ou oculaire, à mettre en lien avec la fréquence plus importante de procédés dispersifs et l'utilisation massive d'ammonium quaternaires associés à des aldéhydes. La mise en place de stratégies de prévention ou de protection est donc à prioriser pour ce maillon. Les alternatives ou méthodes complémentaires aux désinfectants sont une piste à explorer.

ABSTRACT Use of disinfectants from hatchery to slaughterhouse, what are the health risks for users?
For the poultry sector, disinfectants are essential for sanitary control. However, their handling can be the cause of one-off accidents if protective measures are not taken, but can also have chronic effects on health. In order to target and adapt preventive actions, the first step of the aDAPt project aimed to objectify these health risks for users, from the hatchery to the transport of animals to the slaughterhouse. A survey of 12 hatcheries, 19 ouver feeding systems, 6 duck farms, 25 broiler farms and 16 slaughterhouses was conducted to describe the disinfection products used (commercial specialties, safety data sheets, quantities used), and their conditions of use (materials, processes, work environment). Residual risk assessments by inhalation and by skin or eye contact were carried out using the Seirich software (level 2). For all companies, and for all the tasks listed, the level of residual risk by inhalation was high in 41% of cases, and by skin or eye contact in 38% of cases. The higher proportion of tasks with a high level of residual risk (by inhalation or by skin or eye contact) is obtained at farms level. The higher frequency of dispersive processes and the massive use of quaternary ammoniums associated with aldehydes, can explain this result. Therefore, the implementation of prevention or protection strategies is therefore a priority at farms level. Alternatives or complementary methods to disinfectants are strategies that could be explored.

CONTEXTE ET INTRODUCTION

Les crises d'Influenza aviaire ont démontré l'importance d'une observance rigoureuse et pérenne de la décontamination des infrastructures et des matériels utilisés pour l'élevage mais également pour le transport des animaux (Huneau-Salaün et al. 2017 ; Scoizec et al., 2017).
Les désinfectants font partie des biocides soumis à la règlementation européenne (règlement UE n° 528/2012) qui visent à assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et animale, et celle de l'environnement. Deux régimes d'autorisation cohabitent actuellement : un régime « transitoire » qui concerne les produits contenant des substances actives en cours d'évaluation, et un régime « pérenne » qui s'applique dès lors que les substances actives sont approuvées. Les produits contenant ces substances doivent alors faire l'objet d'une évaluation complète pour chaque usage dédié. Beaucoup de produits utilisés en aviculture sont encore à ce jour sous le régime « transitoire ».
Malgré le renforcement de la réglementation, la manipulation des désinfectants peut être à l'origine d'accidents ponctuels si des mesures de protection ne sont pas prises. De nombreuses substances sont susceptibles d'être corrosives ou irritantes pour la peau, les muqueuses oro-rhino-laryngées et bronchiques (ex : ammoniums quaternaires, agents chlorés, acide peracétique), de provoquer des pathologies respiratoires (ex : aldéhydes), des allergies cutanées (ex : glutaraldéhyde, des ammoniums quaternaires) (Abadia et al., 2003 ; Sanderson et al.,1995 ; Massin et al., 2007)
Afin de cibler et d'adapter les actions de prévention auprès des acteurs des filières avicoles, la 1ère action du projet aDAPt visait à décrire les pratiques d'utilisation des désinfectants et objectiver ces risques pour la santé, du couvoir, au transport des volailles vers l'abattoir.

1. METHODES

Cent huit enquêtes ont été conduites auprès de 12 couvoirs (Bretagne, Centre-Val de Loire, Nouvelle Aquitaine, Pays-de-la-Loire), 25 élevages de poulets de chair (Bretagne), 19 ateliers de gavage (Bretagne et Nouvelle Aquitaine), 6 élevages de canards prêt à engraisser (Nouvelle Aquitaine) et 16 abattoirs (Bourgogne-Franche Comté, Bretagne, Centre-Val de Loire, Grand-Est, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, Pays-de-la Loire).
Le logiciel « Système d'évaluation et d'information sur les risques chimiques en milieu professionnel » (Seirich), a permis de réaliser des évaluations des risques dits « résiduels » par inhalation et par contact cutané ou oculaire. A noter que le port d'équipements de protection individuelle (EPI) n'est pas pris en compte dans ces évaluations.
L'activité de l'entreprise y est découpée en zones de travail, dans lesquelles le manipulateur dispose des ressources matérielles lui permettant d'effectuer différentes tâches. Afin de comparer les résultats obtenus dans chaque entreprise, la zone de travail a été définie dans cette étude, comme étant une opération du process de production nécessitant la manipulation d'un produit désinfectant (ex : « désinfection des camions »). Des informations ont été recueillies pour caractériser le renouvellement de l'air dans l'environnement de travail dans ces zones, et les dispositifs de captage éventuellement présents (ex : hotte d'aspiration).
Plusieurs tâches peuvent ensuite être identifiées au sein de chaque zone (ex : appliquer un produit, doser, remplir le réservoir). Le matériel utilisé (ex : pompe doseuse, canon à mousse), et le procédé (ex : remplissage par versement d'un produit directement à la main depuis le bidon, actionnement d'un dispositif à distance pour le déclenchement de l'appareil), ont été modélisées dans le logiciel par des « types de procédé » s'appuyant sur le guide européen d'évaluation des risques des substances chimiques nouvelles, et des « types de scénario cutané et de surface exposée » (Bertrand et al., 2020).
Enfin, un inventaire complet des spécialités commerciales utilisées pour chaque tâche a été réalisé (plusieurs produits peuvent être utilisés pour une même tâche), en collectant les caractéristiques physicochimiques, les mentions de dangers, et d'avertissement, les conseils de prudence, les pictogrammes à l'aide des fiches de données sécurité (FDS), et la consommation de produit.

2. RESULTATS

2.1 Caractéristiques de l'environnement de travail,

Pour le maillon « élevage », 34 zones de travail ont été répertoriées pour les 25 producteurs de canards. La désinfection de l'intérieur des bâtiments est réalisée systématiquement pour toutes ces entreprises et la plupart du temps en l'absence de ventilation (portail fermés, ventilateurs arrêtés). Seules, la désinfection des bottes et celle des abords et/ou parcours ont par ailleurs été identifiées comme autres zones de travail (réalisées par moins de 25 % des entreprises). Par ailleurs, 75 zones de travail ont été identifiées pour les 25 élevages de poulets de chair. Au moins une désinfection est systématiquement réalisée par tous ces élevages (avec les portails largement ouvert ou avec la ventilation en fonctionnement la plupart du temps), et 17 réalisent également une 2nd désinfection (généralement portails fermés, ventilateurs arrêtés). Seuls 11 entreprises réalisent également une désinfection des silos et des abords, et 8 éleveurs désinfectent leurs bottes avant d'entrer dans le sas.
Pour les couvoirs, 109 zones de travail ont été répertoriées pour les 12 entreprises enquêtées. La désinfection des œufs à couver (OAC), de la salle d'incubation, de la salle d'éclosion sont réalisées systématiquement (la plupart du temps dans des

locaux ventilés). Les camions de transport des OAC et des poussins sont également désinfectés par la plupart des couvoirs (en extérieur ou dans un hangar ventilé). Les éclosoirs et casiers d'éclosion sont également désinfectés par plus de 2/3 des couvoirs (la plupart du temps dans des locaux ventilés).
Enfin, 59 zones de travail ont été caractérisées pour le transport des animaux à l'abattoir, pour les 16-entreprises enquêtées. Les camions, et les caisses de transport sont systématiquement désinfectés (la plupart du temps en extérieur ou dans un hangar ventilé). Seul un abattoir ne désinfecte pas systématiquement le quai (sauf en période de risque élevé influenza aviaire). Les containeurs de transport son désinfectés à part lorsqu'ils sont amovibles pour 10 abattoirs.
Le renouvellement de l'air peut donc être considéré comme suffisant (extérieur, hangar/bâtiment largement ouvert ou ventilé) dans la plupart des cas pour les couvoirs, transport des animaux à l'abattoir, et élevages de poulets de chair (respectivement 91 %, 96 % et 79 % des zone de travail pour ces types d'entreprises), tandis que l'environnement de travail est plutôt confiné (bâtiment fermé, non ventilé) la plupart du temps pour les producteurs de canards (62 % des zones de travail).

2.2 Matériel et procédés utilisés

Le matériel d'application est très peu diversifié pour les producteurs de canards, où l'on répertorie essentiellement des canons à mousse ou lances de pulvérisation, et des épandeurs à engrais (désinfection des abords et parcours).
En élevages de poulet de chair, le matériel est plus diversifié. Outre les canons à mousse, lances de pulvérisation et épandeurs, la brumisation, nébulisation et la fumigation sont très utilisés (2nd désinfection des bâtiments et silos). De même, pour le transport des animaux à l'abattoir, les canons à mousse ou lances de pulvérisation restent très majoritaires, mais les laveuses de caisses sont également très répandues.
Enfin, les couvoirs constituent le type d'entreprises où la diversité de pratiques est la plus importante : canons à mousse ou lances de pulvérisation, brumisation, nébulisation ou fumigation, laveuses de caisses, portiques de désinfection.
Le versement du produit dans le réservoir, à la main, directement depuis le bidon est la manière de remplir le matériel d'application la plus courante quel que soit le type d'entreprise. Cependant, si les producteurs de canards, ainsi que les élevages de poulets de chair, procèdent presque exclusivement de cette manière, l'utilisation de pompes doseuses est beaucoup plus fréquente en abattoirs et couvoirs.
Les procédés dispersifs, c'est-à-dire *« qui par l'énergie déployée ou l'absence de confinement génère un apport de produit dans l'atmosphère de travail »*, sont ainsi très présents chez les producteurs de canards et les élevages de poulets de chair. A l'inverse, les procédés dits clos, c'est-à-dire « *Tout procédé entièrement confiné »,* sont plus fréquents en abattoirs et en couvoirs, bien qu'ils n'y soient pas majoritaires (tableau 1). Concernant les scénarios cutanés, la génération d'éclaboussures ou d'aérosols, c'est-à-dire *« lorsque le produit peut être projeté directement sur la peau »*, est particulièrement présent chez les producteurs de canards et les élevages de poulets de chair. A l'opposé, les scénarios où aucun contact n'est possible, c'est dire *« lorsque la situation de travail rend impossible le contact entre la substance et la peau »*, sont plus fréquents en abattoirs et en couvoirs (tableau 1).
Concernant les scénarios cutanés, la « génération possible d'éclaboussures ou d'aérosols » est très présente chez les producteurs de canards et les élevages de poulets de chair, en raison notamment de l'utilisation très fréquente de canons à mousse ou lances de pulvérisation, avec un remplissage du réservoir, à la main, directement depuis le bidon. En abattoirs et couvoirs, les type de scénarios sont plus diversifiés en lien avec la diversité des pratiques qui permettent pour certaines de limiter le contact avec la peau ou les yeux (tableau 1).

2.3 Familles de produits désinfectants utilisés

La famille des ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes est la plus utilisée quel que soit le type d'entreprise (tableau 2). Il s'agit exclusivement de produits contenant du glutaraldéhyde. En Certains éleveurs nous ont expliqué a posteriori qu'ils pouvaient utiliser à l'occasion (1 fois par an) un produit contenant du formaldéhyde (classé comme cancérogène, mutagène et toxique pour la reproduction (CMR)). Dans ce cas, ils font appel à une entreprise de prestation, ce qui peut expliquer qu'ils n'ont pas pensé à le mentionner lors de l'inventaire réalisé pour l'enquête.
Les couvoirs présentent la diversité de familles de produits désinfectants la plus importante, avec 11 familles répertoriées. Les ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes sont majoritaires, suivi des ammoniums quaternaires seuls, et dans une moindre mesure, l'acide peracétique, les phénols et les peroxydes d'hydrogène.
Pour le transport des animaux à l'abattoir et les élevages de poulets de chair, une diversité de familles de produits similaires est comptabilisée (respectivement 7 et 8). Les ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes arrivent en tête des utilisations. Ensuite, les agents chlorés et les amines sont très présents en abattoirs, tandis que pour les élevages de poulets de chair, il s'agit des bases (désinfection des abords, et sol en terre battue). Vient ensuite pour ces élevages, l'acide glycolique pour la fumigation des silos d'aliment uniquement, et les phénols.
La plus faible diversité de famille de produits a été obtenue chez les producteurs de canards (5

familles), qui utilisent presque exclusivement des ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes, et des bases pour la désinfection des abords et parcours.

2.4 Evaluation des risques résiduels

Sur l'ensemble des tâches répertoriées, le niveau de risque résiduel par inhalation est élevé dans 41 % des cas; et celui par contact cutané ou oculaire, dans 38 % des cas (tableau 3).

2.4.1 Impact des procédés et scénarios cutanés

Un niveau élevé de risque résiduel par inhalation est plus fréquemment évalué pour les tâches utilisant des procédés dispersifs ou ouverts. A l'inverse, les procédés clos sont évalués la plupart du temps avec un niveau faible (tableau 4).
Les tâches modélisées par des scénarios cutanés où la génération d'éclaboussures ou d'aérosols est possible, présentent très souvent un niveau élevé de risque par contact cutané ou oculaire (tableau 4).

2.4.2 Selon la famille de produits désinfectants

L'utilisation des produits de la famille des ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes, est globalement souvent risquée, que cela soit par inhalation ou par contact cutané ou oculaire. L'utilisation d'autre famille de produit est globalement moins à risque. Soulignons néanmoins que l'utilisation d'acide peracétique ou d'agents chlorés présentent assez fréquemment un niveau élevé de risque résiduel par contact cutané ou oculaire, même si dans la majorité des situations, le risque est faible. L'acide glycolique utilisé uniquement pour la désinfection des silos présente un niveau de risque faible que cela soit par inhalation ou par contact cutané ou oculaire (tableau 5).

2.4.3 Par type d'entreprise

Les producteurs de canards, ainsi que les élevages de poulets de chair présentent une part importante de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par inhalation (tableau 3). Cela peut s'expliquer par des utilisations plus fréquentes d'ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes (surtout pour les producteurs de canards), conjugués à des procédés dispersifs très fréquents en élevages (tableau 1 et 2).
Les producteurs de canards présentent par ailleurs une part importante de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par contact cutané ou oculaire (tableau 3), ce qui est à mettre en lien avec la part très importante de tâches avec des procédés possiblement générateurs d'éclaboussures ou d'aérosols (tableau 1). Les procédés sans contact possible sont plus fréquents en élevages de poulets de chair que chez les producteurs de canards (tableau 1), ce qui se traduit par une part plus importante de tâches avec un niveau faible de risque résiduel par contact cutané ou oculaire (tableau 3).
En couvoirs et en abattoirs, la part des tâches présentant un niveau élevé de risque résiduel par inhalation élevé est plus modeste, en comparaison aux élevages (tableau 3). Ceci peut s'expliquer en partie par l'utilisation de procédés clos et/ou clos mais ouvert régulièrement plus fréquent dans ces entreprises qu'en élevage, et des utilisations plus fréquentes de familles de produits moins exposantes (en particulier pour les couvoirs) (tableau 1 et 2).
Les procédés clos sont plus fréquents en couvoirs et en abattoirs que chez les producteurs de canards et de poulets de chair (tableau 1), ce qui contribue à une plus faible proportion de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par contact cutané ou oculaire (tableau 3). A noter cependant l'utilisation relativement fréquente d'agents chlorés en abattoirs qui engendre un risque résiduel cutané et oculaire élevé (tableau 2).

CONCLUSION

L'état des lieux des familles de produits réalisé dans cette étude ne représente qu'une photographie à un instant. Les produits pourraient en effet évoluer à l'avenir avec l'évaluation des substances actives. Un certain nombre de molécules, les plus délétères risquent de ne pas être approuvées et donc d'être supprimées dans les formulations commerciales présentant le plus de risques pour la santé humaine.
Cette étude met néanmoins en lumière une part non négligeable de situations pour lesquelles le risque résiduel par inhalation ou par contact cutané ou oculaire reste élevé, en particulier pour les élevages (canards et poulets). La mise en place de stratégies de prévention ou de protection est donc particulièrement à prioriser pour ce maillon, d'autant plus que la sensibilisation, l'information et la formation y est moins soutenue (collectif de travail plus réduit par entreprise, mobilisation des éleveurs plus difficiles sur ces sujets…). La professionnalisation des éleveurs quant aux bonnes pratiques de manipulations du matériel (notamment canons à mousse le plus utilisés) et des produits (protection des yeux, de la peau, des voies respiratoires, aération des locaux…) est à renforcer à la fois pour protéger leur santé, celle des consommateurs et celle de l'environnement, mais aussi garantir l'efficacité de la désinfection. L'utilisation d'alternatives ou méthodes complémentaires permettant d'utiliser moins de désinfectant est aussi une piste qui est explorée dans une seconde action du projet.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre de l'UMT SANIVOL, avec le soutien financier du CASDAR, du CIPC, de la FIA, du CNADEV et du CIFOG.

Les auteurs remercient l'ensemble des entreprises ayant participé à cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abadia G., Mirabito L., 2003. 5ème Jour. de la Rech. Avi., Tours.

Sanderson W T, Weber A., 1995. App. Occup. and Env.. Hyg. 10: 43-49.

Massin N., Hecht G. Ambroise D., Héry M, Toamain JP, Hubert G, Dorotte M., Bianchi B., 2007. Occup Env. Med, 64:75-91.

Scoizec A, Souillard R., Daniel P., Thomas R., et Le Bouquin-Leneveu S., 2017. Bul. Ep., Sant. An. et Al., 80 (3) : 10-16

Bertrand N., Clerc F., Malard S., Marc F., Miraval S., Toulemonde M., Vincent R., 2020. In : Démarche d'évaluation des risques utilisée dans Seirich – Version 9, INRS, pp37

Huneau-Salaün A., Scoizec A., Thomas R., et Le Bouquin-Leneveu S., 2017. Bul. Ep., Sant. An. et Al., 80 (2) : 6-9

Tableau 1. Répartition des types de procédés et des types de scénario cutané pour chaque type d'entreprise

		abattoirs	couvoirs	producteurs de canards	élevages de poulets de chair	Total
type de procédé	Dispersif	41%	56%	**93%**	**85%**	**64%**
	Ouvert	1%	2%	4%	6%	3%
	Clos mais ouvert régulièrement	**18%**	**18%**	1%	1%	12%
	Clos	**40%**	**24%**	1%	8%	21%
type de scénario cutané	Génération possible d'éclaboussures ou d'aérosols	**35%**	**37%**	**79%**	**53%**	45%
	Contact possible du produit avec une partie du corps	21%	22%	10%	16%	19%
	Pas de contact possible	**44%**	**41%**	11%	**30%**	36%

Tableau 2. Répartition des familles des produits désinfectants pour chaque type d'entreprise

	abattoirs	couvoirs	producteurs de canards	élevages de poulets de chair	Total
ammonium quaternaire associé à un aldéhyde	**56%**	**44%**	**74%**	**50%**	**52%**
base	0%	0%	**17%**	**26%**	10%
ammonium quaternaire	7%	**19%**	0%	1%	9%
phénolés	0%	**6%**	3%	9%	5%
acide glycolique	0%	3%	0%	**12%**	5%
acide peracétique	5%	**8%**	0%	0%	4%
chlore	**14%**	3%	0%	0%	4%
amine	**14%**	2%	0%	0%	4%
autres (peroxyde d'hydrogène, alcool, peroxymonosulfate de potassium, imidazole)	5%	14%	6%	2%	8%

Tableau 3. Répartition des niveaux de risques résiduels pour chaque type d'entreprise

	Risque résiduel par inhalation			Risque résiduel par contact cutané ou oculaire		
type d'entreprise	*faible*	*modéré*	*élevé*	*faible*	*modéré*	*élevé*
abattoirs	26%	**39%**	35%	**33%**	27%	**40%**
couvoirs	32%	**39%**	29%	**46%**	27%	28%
producteurs de canards	13%	8%	**76%**	13%	14%	**71%**
élevage de poulets de chair	22%	22%	**55%**	**32%**	25%	**42%**
Total	26%	32%	**41%**	**37%**	25%	**38%**

Tableau4. Répartition des niveaux de risques résiduels selon le type de procédé et selon le type de scénario cutané

Risque résiduel par inhalation				Risque résiduel par contact cutané ou oculaire			
type de procédé	*faible*	*modéré*	*élevé*	*type de scénario cutané*	*faible*	*modéré*	*élevé*
Dispersif ou ouvert	**17 %**	**27 %**	**55 %**	Génération possibles d'éclaboussures ou d'aérosols	3 %	**28 %**	**68 %**
Clos mais ouvert régulièrement	18 %	**47 %**	38 %	Contact possible du produit avec une partie du corps	22 %	**45 %**	33 %
Clos	**61 %**	38 %	0 %	Pas de contact possible	**90 %**	10 %	0%

Tableau 5. Répartition des niveaux de risques résiduels selon la famille de produits désinfectant utilisés

	Risque résiduel par inhalation			Risque résiduel par contact cutané ou oculaire		
	faible	*modéré*	*élevé*	*faible*	*modéré*	*élevé*
ammonium IV/aldéhyde	8%	20%	**73%**	25%	14%	**61%**
base	44%	49%	3%	41%	52%	3%
ammonium IV	36%	53%	12%	37%	46%	17%
phénol	8%	86%	6%	47%	47%	6%
acide glycolique	73%	27%	0%	100%	0%	0%
acide peracétique	47%	53%	0%	47%	25%	28%
chlore	43%	57%	0%	47%	23%	30%
amine	69%	14%	17%	38%	45%	17%
autres	67%	20%	10%	58%	35%	3%

SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

Synthèse

L'EPIGENETIQUE A L'INTERFACE ENTRE L'ENVIRONNEMENT ET L'ADN : QUELLE IMPORTANCE POUR LES PRATIQUES D'ELEVAGE ET LES METHODES DE SELECTION ?

Coustham Vincent[1], Andrieux Charlotte[1], Collin Anne[2], David Ingrid[3], Demars Julie[3], Houssier Marianne[1], Lagarrigue Sandrine[4], Métayer-Coustard Sonia[2], Mignon-Grasteau Sandrine[2], Petit Angélique[2], Vitorino Carvalho Anaïs[5], Zerjal Tatiana[6], Pitel Frédérique[3]

[1]INRAE, Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, NUMEA, 64310 Saint-Pée-sur-Nivelle, [2]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380, Nouzilly,[3]Université de Toulouse, INRAE, ENVT, GenPhySE, 31326 Castanet-Tolosan, [4]INRAE, Institut Agro, PEGASE, 35590, Saint-Gilles, [5]CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380, Nouzilly, [6]INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, GABI, Jouy-en-Josas

vincent.coustham@inrae.fr, frederique.pitel@inrae.fr

RÉSUMÉ

L'épigénétique est communément définie comme l'ensemble des mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation de l'expression des gènes, mécanismes qui sont réversibles et transmissibles au cours du développement, et parfois au-delà, sans modification de la séquence de l'ADN. Plusieurs marques épigénétiques sont aujourd'hui bien documentées, comme la méthylation de l'ADN, les modifications des histones ou les ARN non codants. Grâce au développement technologique du séquençage à "haut débit", ces marques épigénétiques peuvent maintenant être identifiées à l'échelle du génome entier. L'ensemble des modifications épigénétiques constitue l'épigénome. Il est très sensible aux fluctuations environnementales, comme des changements thermiques ou nutritionnels, et se situe à l'interface entre gènes et environnement. Des stratégies de programmation précoce des phénotypes reposant sur ces mécanismes épigénétiques pourraient donc être utilisées comme levier pour ajuster le phénotype des individus à leurs conditions de vie. Au cours des dernières décennies, la sélection génétique a contribué à une amélioration considérable des performances des animaux. Mais bien que la composante génétique de la variabilité phénotypique puisse être estimée avec précision, une grande partie de cette variabilité n'est pas directement accessible par les approches actuelles. Dans un contexte de diversification des environnements de production (changement climatique, modes de production plus respectueux du bien-être animal et de l'environnement...), il est nécessaire de comprendre l'impact de l'environnement sur la variation phénotypique via les marques épigénétiques, pour optimiser les systèmes d'élevage et mieux prédire le phénotype d'un animal. Comme ce fut le cas des polymorphismes d'ADN pour la sélection génomique il y a quelques années, la prise en compte des données épigénétiques pourrait aussi contribuer à des systèmes de production plus efficaces et plus durables en aviculture.

ABSTRACT

Epigenetics at the interface between environment and DNA: what importance for breeding practices and selection methods?

Epigenetics is commonly defined as the set of molecular mechanisms involved in gene regulation that are reversible and transmissible during development, and sometimes beyond, without altering the DNA sequence. Several epigenetic marks involved in chromatin regulation are now well known, such as the methylation of DNA cytosines, histone modifications, and non-coding RNAs. Thanks to the technological development of "high-throughput" DNA sequencing, epigenetic marks can now be investigated at the whole-genome scale. The epigenome is very sensitive to environmental fluctuations, including temperature or nutrition, and can be considered as a mediator between the genes and the environment. Phenotypic programming strategies based on epigenetic mechanisms could thus be used as a lever to adjust the phenotype of individuals with their living conditions. Over the last decades, genetic selection has contributed to a considerable improvement in animal performance. Although the genetic component can be estimated with some accuracy, a large part of the phenotypic variability, considered to be of environmental origin, is not directly accessible by genetic approaches. In a context of diversification of production environments (climate change, production methods that are more respectful of welfare and the environment...), it is necessary to understand the impact of the environment on phenotypic variation via epigenetic marks, to optimize breeding systems and to better predict the phenotype of an animal. As with DNA polymorphisms for genomic selection a few years ago, taking into account epigenetic data could also contribute to more efficient and sustainable production systems in poultry farming.

1. L'ÉPIGÉNÉTIQUE, CHEF D'ORCHESTRE DE L'EXPRESSION DE NOTRE GÉNOME

1.1. Définition et concepts actuels

Dans les années 1950, l'embryologiste C. H. Waddington a proposé l'idée qu'une cellule en développement pouvait avoir différentes fonctions finales (Waddington, 1957). Ainsi, alors que l'ADN, support de l'information génétique, est unique et identique dans chacune de nos cellules, son produit (les transcrits de gènes, pouvant pour certains être traduits en protéines) va permettre une grande diversité de types cellulaires en fonction de la combinatoire de gènes qui s'expriment. De cette hypothèse a découlé la définition moderne de l'épigénétique, "l'étude des changements dans la fonction des gènes, hérités par mitose et/ou méiose, qui ne peuvent être expliqués par des changements dans la séquence d'ADN" (Riggs *et al.*, 1996). Ainsi, l'épigénétique est communément définie comme l'ensemble des mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation de l'expression des gènes qui sont réversibles et transmissibles au cours du développement, et parfois au-delà, sans altération de la séquence d'ADN. En quelque sorte, l'épigénétique est le chef d'orchestre de l'expression de notre génome.

Les mécanismes épigénétiques modulent la compaction de l'ADN au sein de la cellule eucaryote, nécessaire au stockage de l'information génétique dans chaque cellule. Plusieurs niveaux de compaction existent, le premier correspondant à l'enroulement de deux tours d'ADN (146 paires de bases) autour d'un octamère de protéines histones. Cette association de l'ADN avec les histones est nommée nucléosome. Les nucléosomes sont eux-mêmes enroulés en fibres de chromatine qui vont elles-mêmes s'enrouler sur plusieurs niveaux jusqu'à aboutir à l'état final de compaction, le chromosome. En conséquence, pour qu'un gène puisse s'exprimer, il faut un mécanisme qui puisse décompacter l'ADN aux endroits stratégiques, c'est à dire au niveau des gènes qui doivent s'exprimer, les rendant accessibles à la machinerie transcriptionnelle. C'est là qu'interviennent les marques épigénétiques, qui vont favoriser ou non l'ouverture de la chromatine, mettre en relation des domaines chromatiniens distants, ou encore favoriser le recrutement de facteurs nucléaires environnants. Ainsi, la régulation de la structure de la chromatine et les programmes d'expression des gènes sont interdépendants et doivent être finement régulés.

Il est important de noter que la présence de marques épigénétiques au niveau d'un gène ne conditionne pas forcément son niveau d'expression. Des gènes porteurs de marques associées à l'expression génique peuvent ne pas être exprimés, et vice-versa. Par ailleurs, des marques épigénétiques dites répressives peuvent être mises en place en conséquence de l'extinction d'un gène, pour stabiliser la répression, sans en être la cause. Ainsi, la mise en évidence d'une relation de cause à effet entre marque épigénétique et expression des gènes doit être démontrée, par des approches moléculaires impliquant par exemple des stratégies d'édition des génomes de type CRISPR/Cas9.

1.2. Principales marques épigénétiques

Plusieurs marques épigénétiques sont aujourd'hui bien connues. L'une des modifications les plus étudiées est la méthylation des cytosines de l'ADN. La méthylation de l'ADN est mise en place par des enzymes spécifiques nommées méthyltransférases dont le nombre varie en fonction des organismes. Elle peut être supprimée de manière passive (par dilution au cours de la réplication de l'ADN) ou par des mécanismes actifs plus complexes. La méthylation de l'ADN est connue pour son rôle dans la répression des gènes, quand celle-ci est localisée en forte concentration dans les régions promotrices des gènes. Cependant, de nombreuses autres fonctions ont été identifiées, comme son rôle dans l'épissage alternatif des transcrits ou dans la répression des évènements de transcription indésirables initiés à partir de rétrotransposons ou de séquences dans les corps de gènes (Tirado-Magallanes *et al.*, 2017). La méthylation de l'ADN contribue donc au bon fonctionnement du génome.

Les modifications post-traductionnelles des histones (MPTH) sont un autre type de marque épigénétique très étudiée. Les MPTH comme l'acétylation des lysines agissent notamment sur la charge des nucléosomes (positive, alors que l'ADN est chargé négativement), ce qui influence leur positionnement, pouvant mettre à nu l'ADN et permettre ainsi sa transcription. Par ailleurs, les extrémités protéiques des histones sont accessibles en dehors de la structure nucléosomique et peuvent être la cible privilégiée de nombreuses modifications telles que la méthylation, la phosphorylation, la sumoylation... Ainsi, les MPTH exposées servent de point d'ancrage pour des facteurs qui régulent directement ou indirectement la structure chromatinienne et l'expression des gènes. Par exemple, la triméthylation de la lysine en position 4 sur l'histone H3 (H3K4me3) favorise l'ouverture de la chromatine et permet donc le recrutement de facteurs de transcription au niveau des séquences régulatrices des gènes (Zhang *et al.*, 2015). A l'opposé, d'autres MPTH, comme la triméthylation de la lysine en position 27 de l'histone H3 (H3K27me3), favorisent un état compacté de la chromatine, défavorable à l'expression des gènes.

Un dernier type de marques épigénétiques communément étudié correspond aux acides ribonucléiques (ARN) non codants. Ces ARN de diverses natures sont des transcrits de l'ADN qui ne sont pas traduits en protéines. Ils sont de tailles variées, allant de quelques dizaines de nucléotides (appelés alors "petits ARN") jusqu'à plusieurs

centaines à milliers de bases (appelés alors "ARN longs non codant"), ces derniers étant codés par des gènes aussi nombreux que les gènes codant des protéines (Lagarrigue *et al.*, 2021). Leurs fonctions sont diverses au sein du noyau, telles que la régulation de la conformation de l'ADN, la dégradation de transcrits ou l'interférence avec la machinerie permettant l'expression des gènes. Ces ARN peuvent agir localement sur l'expression des gènes voisins du gène non codant mais également à distance, c'est à dire sur l'expression de gènes plus lointains sur le génome. Certains peuvent même circuler dans les tissus pour effectuer des actions à distance voire transmettre de manière transgénérationnelle des informations épigénétiques (Chen *et al.*, 2016).

1.3. Stratégies d'étude des marques épigénétiques : des approches ciblées aux approches tout-génome

Diverses méthodes permettent d'étudier la présence de marques épigénétiques. Par exemple, une conversion chimique par déamination au bisulfite de sodium convertit les cytosines en uraciles (puis en thymines après réaction de polymérisation en chaine, ou PCR) sauf si les cytosines sont méthylées. Ainsi, la marque épigénétique devient identifiable par séquençage. D'autres méthodes existent, notamment par immuno-précipitation (à l'aide d'anticorps spécifiquement dirigés contre la forme méthylée des cytosines) ou digestion par des enzymes sensibles ou non à la méthylation de l'ADN, chacune ayant ses caractéristiques propres en termes de précision du signal, couverture des régions génomiques analysées, coût et durée d'analyse (David *et al.*, 2017, Mersch *et al.*, 2018). Il est plus laborieux de définir la position d'une MPTH car la modification est portée par l'histone et non par l'ADN. Pour cela, la chromatine est tout d'abord extraite des noyaux, fixée (cette étape étant optionnelle mais permettant de stabiliser les interactions) et fragmentée. Ensuite, un anticorps spécifique de la MPTH étudiée va permettre de capturer les nucléosomes portant la marque d'intérêt par immunoprécipitation. Les fragments d'ADN immunoprécipités sont ensuite isolés et étudiés par des approches ciblées de type PCR quantitative ou par séquençage. Depuis peu, une méthode nommée "CUT&RUN" permet de réaliser l'immuno-précipitation directement dans le noyau, réduisant de manière significative le matériel de départ requis et le bruit de fond expérimental (Skene *et al.*, 2017).
Depuis une dizaine d'années, la présence d'une marque peut être identifiée sur l'ensemble du génome pour des coûts devenus compatibles avec des programmes de recherche classiques, grâce au développement technologique de séquenceurs d'ADN dits "à haut débit". Au début des années 2000, un séquençage de génome humain avec les premiers séquenceurs coûtait 100 millions d'euros, alors que de nos jours, il en coûte moins de 1000 €. De même le séquençage des transcrits - dont les ARN non codants - est devenu possible à des coûts inférieurs à 500 € par échantillon. Tout ceci a permis de mieux comprendre comment l'épigénome est structuré et le génome régulé. Aujourd'hui, on peut étudier l'expression de tous les gènes (transcriptome) et l'état de méthylation de toutes les cytosines (méthylome) dans une seule et même cellule d'un organisme (Lee *et al.*, 2020).

2. ÉPIGÉNÉTIQUE ET PROGRAMMATION ENVIRONNEMENTALE DES PHÉNOTYPES

On sait aujourd'hui que l'épigénome est très sensible aux fluctuations de l'environnement, dont la température, la nutrition, la pollution, les médicaments ou encore le stress (Feil *et al.*, 2012). Ainsi, une carence nutritionnelle en donneurs de groupements méthyle provenant des aliments (par exemple la méthionine, la bétaïne ou la choline) peut avoir des effets à long terme sur la méthylation de l'ADN et des histones et associés à la survenue de pathologies telles que le diabète ou des troubles neurologiques. D'une certaine manière, l'épigénome est à l'interface entre les gènes et l'environnement. L'exploitation des mécanismes épigénétiques pourrait ainsi servir de levier permettant d'ajuster le phénotype des individus à leur condition de vie.
Le développement précoce est une période critique au cours de laquelle l'environnement influence la santé, le bien-être, la robustesse et les performances des animaux (Ho *et al.*, 2011, Reed *et al.*, 2011). De nombreux effets à long terme de l'environnement précoce (pendant l'embryogenèse ou peu après l'éclosion) ont été démontrés chez les oiseaux (Feeney *et al.*, 2014, Loyau *et al.*, 2015). Le modèle des vertébrés ovipares diffère des autres en raison d'un développement embryonnaire hors de la mère. Par conséquent, l'environnement de l'embryon peut être plus facilement manipulé, ce qui ouvre de nouvelles possibilités de programmation phénotypique en productions avicoles. Des effets bénéfiques de différents stimuli ont été démontrés, tels que la température (Loyau *et al.*, 2015), la nutrition (Uni *et al.*, 2005, Cherian, 2011) ou les changements de régime alimentaire maternel (Hynd *et al.*, 2016, Baeza *et al.*, 2017, Thanabalan *et al.*, 2021). Dans cette revue seront abordés plus spécifiquement les effets précoces en lien avec la nutrition et la température.

2.1. Programmation nutritionnelle

Deux leviers majeurs peuvent être envisagés pour modifier la teneur en nutriments des œufs afin d'améliorer la robustesse, la croissance et la composition corporelle des poussins : la nutrition de la mère, et la supplémentation directe *in ovo*.
Les liens entre la nutrition de la poule, la composition de l'œuf et le comportement ultérieur de l'animal, ses performances et sa sensibilité aux maladies sont

aujourd'hui bien établis (Aigueperse *et al.*, 2013). La nutrition de la poule peut moduler les niveaux de nutriments essentiels dans l'œuf, qui à leur tour peuvent avoir un impact sur la santé des poussins éclos et leur phénotype ultérieur (voir Ruhl, 2007, Morisson *et al.*, 2017).

La supplémentation *in ovo* est un moyen plus direct d'influencer le phénotype des poussins. Plusieurs études ont décrit l'utilisation de la supplémentation en nutriments *in ovo* pour réduire la fenêtre d'éclosion et améliorer la santé, le statut immunitaire après l'éclosion, l'éclosabilité, le poids du poussin éclos, les performances de croissance et la qualité de la viande (Uni *et al.*, 2004, Wei *et al.*, 2011, Kadam *et al.*, 2013, Roto *et al.*, 2016, Gao *et al.*, 2017, Peebles, 2018, Taha-Abdelaziz *et al.*, 2018, Jha *et al.*, 2019, Kalantar *et al.*, 2019, Ayansola *et al.*, 2021). Les nouvelles stratégies de supplémentation *in ovo* visent également à relever de nouveaux défis tels que la recherche d'alternatives à l'utilisation des antibiotiques par l'injection de probiotiques (Oladokun *et al.*, 2020). La détermination des mécanismes par lesquels les nutriments de l'œuf régulent le métabolisme cellulaire, la signalisation, l'expression et la fonction des gènes est importante pour identifier de nouveaux leviers permettant d'améliorer l'utilisation des nutriments, l'efficacité de la production avicole et la robustesse des animaux. Chez les oiseaux, la plupart des études ne rapportent que les effets des injections *in ovo* sur les phénotypes. Seules quelques études récentes visent à déchiffrer les mécanismes impliqués dans ces changements phénotypiques. Des changements épigénétiques pourraient être impliqués, notamment lorsque des donneurs de groupes méthyles, comme la méthionine, sont injectés (Anderson *et al.*, 2012, Donohoe *et al.*, 2012, Veron *et al.*, 2018). Ainsi, la manipulation de la teneur en acides aminés soufrés pourrait induire des changements dans la fonction cellulaire avec des implications sur le développement, la croissance à long terme et la santé de l'animal. Il a par ailleurs été montré que la supplémentation en folates améliore les performances de croissance, la fonction immunitaire et le métabolisme du folate des poulets de chair par la régulation épigénétique des gènes immunitaires en modifiant la conformation de la chromatine et les marques épigénétiques telles que la méthylation des histones (Li *et al.*, 2016). Enfin, des travaux montrent que l'injection de bétaïne (un composant du cycle de la méthionine), également considérée comme un agent antioxydant et un donneur de méthyle efficace, affecte le métabolisme hépatique du cholestérol par la régulation épigénétique des gènes chez les poussins nouvellement éclos (Hu *et al.*, 2015).

2.2. Programmation thermique

Les poulets de chair ont longtemps été sélectionnés sur des caractères de performance de croissance, avec des progrès significatifs dans la sélection génétique au cours des dernières décennies. Cependant, l'augmentation de la masse corporelle du poulet et de la croissance du muscle n'a pas été associée à une augmentation parallèle de leur appareil cardio-respiratoire (Havenstein *et al.*, 2003). Ceci nuit à leurs capacités de thermorégulation, les rendant très sensibles à une augmentation de la température ambiante avec un impact direct sur le bien-être, les performances et la mortalité (Yahav *et al.*, 2001). De nos jours, à cause du réchauffement climatique il est nécessaire d'ajuster nos pratiques d'élevage pour que les animaux soient plus robustes face à des vagues de chaleur de plus en plus fréquentes et intenses. Dans ce contexte, une stratégie de programmation thermique précoce a été mise au point pour améliorer la résistance à la chaleur, initialement chez le poulet de chair. Le traitement de manipulation thermique embryonnaire à la chaleur (MT) chez le poulet consiste à augmenter la température d'incubation des œufs, par exemple de 1,7 °C, 12 heures par jour, pendant les jours 7 à 16 de l'incubation. Il a été montré qu'un tel traitement cyclique permet une baisse de la mortalité des poulets mâles soumis à un stress thermique à l'âge d'abattage (Piestun *et al.*, 2008), les femelles étant moins sensibles à la chaleur. Un grand nombre de protocoles de MT ont été rapportés dans la littérature dans différentes espèces aviaires, bien que le poulet soit l'espèce majoritairement étudiée (voir Loyau *et al.*, 2015).

Une étude de l'expression des gènes du muscle pectoral, tissu responsable d'une partie significative de la production de chaleur, a été réalisée chez des poulets de chair mâles témoins et MT par des approches gènes candidats ou de transcriptomique à l'aide de puces à ADN. Ces travaux montrent que la MT affecte l'expression de gènes dans le muscle à 35 jours d'âge (J35), pour certains impliqués dans le métabolisme énergétique et la fonction mitochondriale en relation avec la production de chaleur (Loyau *et al.*, 2014, Loyau *et al.*, 2016). Par ailleurs, l'analyse différentielle du transcriptome des animaux incubés en condition standard (C) et MT ayant subi (CC) ou non (RT) un coup de chaleur (32°C, 5 h à J34) a montré 6 fois plus de gènes différentiels en réponse à la chaleur chez les animaux MT (MT-RT vs MT-CC, caractérisés par des températures internes moins élevées que les poulets témoins) que la même comparaison chez les témoins (C-RT vs C-CC ; (Loyau *et al.*, 2016). Ainsi, les effets de la MT sont révélés par une exposition à la chaleur et suggèrent que la MT pourrait permettre la mobilisation de plus de gènes en cas de réponse à une exposition thermique ultérieure, ou changerait l'intensité de la réponse génique ou encore le timing de cette réponse génique (les prélèvements étant faits

directement à la fin des 5 h de challenge thermique). Des observations similaires ont été rapportées pour l'hypothalamus des cailles, tissu impliqué dans la régulation de la température interne (Vitorino Carvalho *et al.*, 2021). De manière intéressante, la MT a affecté principalement la réponse transcriptomique des cailles femelles, en accord avec l'observation d'un effet phénotypique prépondérant de la MT des femelles chez cette espèce (Vitorino Carvalho *et al.*, 2020). Ainsi, des différences importantes de réponse au traitement existent en fonction des espèces et du sexe de l'animal.

Une étude récente a exploré les mécanismes épigénétiques de la MT chez le poulet de chair. Cette étude s'est focalisée sur deux modifications post-traductionnelles des histones dans le muscle et l'hypothalamus du poulet de chair : les marques H3K4me3 et H3K27me3 (voir 1.2). Les résultats de cette étude montrent que les deux marques sont impactées par la MT dans l'hypothalamus, avec un effet prépondérant sur la MPTH H3K4me3, pour laquelle près de 800 régions différentiellement enrichies ont pu être identifiées à 35 jours d'âge entre poulets MT et contrôles (David *et al.*, 2019b). La fonction des gènes à proximité de ces régions a été analysée et suggère que ces marques pourraient contribuer à programmer la réponse d'un certain nombre de gènes en lien avec le métabolisme cellulaire des poulets. Ainsi, la MT pourrait induire une reprogrammation épigénétique de l'expression de certains gènes contrôlant des processus métaboliques liés à la thermorégulation. Ces changements épigénétiques seraient maintenus au cours de la croissance du poulet permettant ainsi une réponse métabolique adaptée en cas d'exposition ultérieure à la chaleur (Figure 1). Cette hypothèse est corroborée par des études montrant que plusieurs marques épigénétiques sont impliquées dans la réponse à un traitement thermique post-natal (3 jours après éclosion) lors de l'établissement du contrôle thermique dans le cerveau (Yossifoff *et al.*, 2008, Kisliouk *et al.*, 2010).

Chez les autres espèces aviaires pour lesquelles des protocoles de MT ont été étudiés, les mécanismes sont pour l'heure encore inexplorés. Cependant, plusieurs indices suggèrent que les mécanismes épigénétiques pourraient être également impliqués. Chez le canard, il a été montré que la MT affecte le niveau d'expression génique des enzymes de méthylation, ce qui suggère que la température d'incubation peut influencer la méthylation de l'ADN chez cette espèce au cours du développement précoce (Yan *et al.*, 2015). Chez la caille japonaise, une étude réalisée sur plusieurs générations d'animaux MT suggère que des mécanismes épigénétiques similaires à ceux identifiés chez le poulet contribueraient aux effets à long terme de la MT (Coustham V., données non publiées).

Il est à noter que l'exposition des œufs à de basses températures d'incubation affecte également la physiologie, le comportement, le métabolisme, la santé et le bien-être des poussins et des poulets à plus long terme (Shinder *et al.*, 2011, Nyuiadzi *et al.*, 2020). Cependant, les mécanismes associés avec les expositions à plus basses températures n'ont pas encore été explorés.

2.3. Phénomènes transgénérationnels

L'hypothèse d'un mécanisme de transmission gamétique des changements de l'expression de nos gènes suite à une stimulation de l'environnement a été formulée il y a longtemps par Lamarck. Aujourd'hui, cette théorie fait l'objet d'une grande attention grâce à l'avènement de l'épigénétique, tout en restant controversée car il n'existe actuellement que peu d'études qui fournissent des indications claires sur les mécanismes en jeu. C'est une question sociétale importante, car nous savons aujourd'hui que les animaux ne transmettent pas que leur capital génétique à leur descendance (Miska *et al.*, 2016). En effet, ils peuvent aussi transmettre des caractéristiques épigénétiques acquises par ce qu'ils ingèrent (alimentation, médicaments, etc.), ce qu'ils respirent, ce qu'ils font (activité physique, etc.) ou encore ce qu'ils subissent (stress, rayonnements, etc.). Chez l'animal de rente, la compréhension des mécanismes par lesquels les modifications de l'ADN transmettent cette information est essentielle pour anticiper l'impact de nos pratiques d'élevage sur les descendants, et aiderait au développement de stratégies innovantes permettant d'améliorer la santé, le bien-être et les performances sur le long terme. En outre, identifier les marques épigénétiques transmissibles d'origine environnementale permettrait d'ouvrir de nouvelles perspectives en sélection, en améliorant l'estimation de la valeur d'un reproducteur.

Cependant, de par la diversité des modes d'élevage, des conditions environnementales et, surtout, de la difficulté de discerner les parts génétique et non génétique dans la construction des phénotypes des animaux de rente, cette question est très difficile à appréhender. Il existe donc peu d'études "transgénérationnelles" chez les oiseaux (Guerrero-Bosagna *et al.*, 2018), la première à avoir démontré la transmission d'un effet de l'environnement sur trois générations concerne la caille (Leroux *et al.*, 2017). Deux "épilignées" de cailles ont été produites (populations issues des mêmes fondateurs, de même fond génétique, mais qui diffèrent sur le plan épigénétique) : avant l'incubation, de la génistéine a été injectée (épilignée traitée) ou non (épilignée contrôle) dans les œufs. La génistéine est un phyto-oestrogène naturel présent dans le soja, notamment modificateur de la méthylation de l'ADN (Silva *et al.*, 2019). Après 3 générations parallèles de reproduction, sans autre injection, des mesures phénotypiques ont révélé plusieurs résultats intéressants. En effet, plusieurs caractères ont été affectés par le traitement des ancêtres, comme l'âge au premier œuf retardé de 8

jours, le poids corporel diminué, le poids de gras abdominal augmenté. Des caractères de comportement ont également été impactés. Les différences génétiques entre épilignées ayant été minimisées grâce à un dispositif de croisements "en miroir", les différences observées sont probablement dues, au moins en partie, à une transmission épigénétique transgénérationnelle.

Par ailleurs, des données suggèrent qu'une stimulation à la chaleur appliquée en fin d'embryogenèse chez la caille aurait des effets transgénérationnels, améliorant le taux de conversion alimentaire et le poids corporel après l'éclosion chez les mâles F2 et F3, bien que l'on ne sache pas s'il s'agit d'effets épigénétiques (Tzschentke *et al.*, 2014). Enfin, des travaux réalisés chez la caille japonaise, qui seront présentés oralement lors des quatorzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, suggèrent un effet épigénétique transgénérationnel de la manipulation thermique embryonnaire.

En conclusion, les marques épigénétiques potentiellement apposées en réponses à des variations de l'environnement constituent un élément clé dans la construction des phénotypes. Leur connaissance devrait permettre d'optimiser les conditions d'élevage, et de mieux prédire les performances individuelles.

3. ÉPIGÉNÉTIQUE, GÉNÉTIQUE ET INTERACTIONS GÉNOTYPE X ENVIRONNEMENT

Comme nous l'avons vu précédemment, les animaux d'élevage sont confrontés à de multiples contraintes au cours de leur vie et doivent s'adapter à différentes perturbations telles que des changements dans l'environnement d'élevage, des transitions alimentaires, des variations climatiques ou des maladies. Ces perturbations peuvent avoir un effet important sur la production, la santé et le bien-être, dont l'ampleur varie selon les individus, notamment en fonction de leur génotype (Nauta *et al.*, 2006, Cardoso *et al.*, 2012). Au cours des dernières décennies, la sélection génétique a contribué à améliorer considérablement les performances des animaux : dans l'élevage de volailles, l'augmentation des performances a été remarquable tant chez les poulets de chair que chez les pondeuses (voir Aggrey *et al.*, 2020). Le modèle de sélection génétique considère que le phénotype est décomposé en effets génétiques (G) et environnementaux (E). Même si on peut estimer assez précisément la composante génétique, une part importante de la variabilité phénotypique, considérée comme d'origine environnementale, n'est pas appréhendée avec précision par les approches génétiques. On sait depuis longtemps que l'interaction GxE influence les phénotypes, mais les méthodes de sélection classiques ne sont pas en mesure d'en tenir compte de manière précise : les modèles couramment utilisés supposent que le classement des reproducteurs ne dépend pas des conditions d'environnement. Les conditions de sélection étant souvent assez standardisées, l'impact intra-race de l'interaction GxE n'était jusqu'alors pas si important. Cependant, notamment avec la transition agroécologique - imposée par le changement climatique, la nécessité de préserver l'environnement, et la demande sociétale, notamment en termes de bien-être animal - les systèmes de sélection évoluent : tout en garantissant une production élevée, l'élevage doit se tourner vers d'autres systèmes, plus vertueux (favorisant une utilisation raisonnée des ressources, impactant moins l'environnement, préservant la santé et le bien-être des animaux et garantissant la préservation de la diversité génétique). Par exemple, avec l'allongement des carrières de production des femelles (vaches laitières, poules pondeuses) que l'on observe actuellement, les animaux sont plus exposés à des environnements variés au cours de leur vie. De plus, ces différents systèmes peuvent subir des fluctuations, parfois importantes, par exemple lors des vagues de chaleur ou quand les animaux ont accès à un parcours extérieur. Il est donc souhaitable de mieux comprendre la composante GxE pour être en mesure de sélectionner des génotypes mieux adaptés (Figure 2).

L'environnement dans lequel évolue l'animal peut également induire des modifications à long terme des facteurs héréditaires non génétiques qui ont un impact sur le phénotype et doivent donc être pris en compte dans la décomposition du phénotype (voir David *et al.*, 2019a). En effet, l'environnement contribue à une large part de la variabilité des caractères complexes, notamment à travers des phénomènes épigénétiques.

3.1 Epigénétique et génétique

3.1.1 La génétique influence l'épigénétique

Il est désormais bien établi que les polymorphismes de l'ADN peuvent affecter les marques épigénétiques (Bell *et al.*, 2011, Do *et al.*, 2017). Par exemple, chez la poule, il a été montré récemment que dans le foie environ 30% des gènes longs non-codants (lncRNA) annotés chez la poule avaient leur expression significativement associée à au moins un variant génétique (Jehl *et al.*, 2021). Sur une étude portant sur plus de 50 tissus humains, cette proportion de gènes lncRNA régulés génétiquement dans au moins un tissu s'élevait à 67% (De Goede *et al.*, 2021). De même, jusqu'à 80 % de la variation de la méthylation de l'ADN peut être expliquée par le génotype (Gertz *et al.*, 2011). Une étude chez l'humain a démontré que la méthylation CpG était parfois significativement associée avec des polymorphismes génétiques à distance (Lemire *et al.*, 2015). Do et al. ont passé en revue de nombreuses études révélant l'existence d'une grande variabilité épigénétique d'origine génétique (Do *et al.*, 2017). Un mécanisme expliquant cette influence des génotypes sur l'état épigénétique est le fait que la séquence d'ADN à des sites spécifiques

peut affecter la liaison de facteurs de transcription, certains de ces facteurs de transcription étant capables de modifier le niveau de méthylation de l'ADN à proximité (Feldmann *et al.*, 2013).

3.1.2 L'épigénétique influence la génétique

D'un autre côté, les taux de mutation peuvent également être affectés par les états épigénétiques : les dinucléotides CpG ont un taux de mutation environ 12 fois plus élevé que les autres dinucléotides, car les méthylcytosines sont plus susceptibles de muter que les bases non méthylées (Sved *et al.*, 1990). Le contenu en CpG peut même affecter le taux de mutation des non-CpG (Walser *et al.*, 2010). Plus généralement, des associations entre la structure de la chromatine et les taux de mutation ont été rapportées (Makova *et al.*, 2015). Ainsi, les expositions environnementales pourraient non seulement exercer une pression de sélection sur des allèles préexistants, mais aussi jouer un rôle "direct" sur les polymorphismes de l'ADN, même si les études actuellement publiées reposent sur des corrélations, non démonstratives d'une action causale. Ces phénomènes, lorsqu'ils sont déclenchés par l'environnement depuis des générations via des marques épigénétiques conduisant à des modifications génétiques, ont été appelés "assimilation mutationnelle facilitée par l'épigénétique" (Danchin *et al.*, 2019).

Les mécanismes épigénétiques sont donc directement liés à la fois à l'environnement et à la génétique d'un organisme, acteurs de l'interaction GxE.

3.2 Interactions GxE

Les interactions entre le génotype et l'environnement déterminent comment des individus ayant des génotypes différents vont réagir différemment à des environnements différents. Les environnements peuvent être différents en termes de facteurs biotiques (concentration d'hormones pendant le développement, maladies, etc.) ou abiotiques (température, exposition aux contaminants chimiques, etc.).

Ces interactions peuvent modifier le classement, en fonction des performances, de différents individus lorsqu'ils sont exposés à différents environnements (Haldane, 1946).

Les interactions GxE ont été étudiées de manière approfondie chez les bovins (par exemple, Hayes *et al.*, 2009, Bernabucci *et al.*, 2014). Dans les programmes de sélection tels que ceux rencontrés chez le porc et la volaille, une perte de gain génétique due à l'interaction GxE peut également être observée (Mulder *et al.*, 2005). L'interaction GxE a été observée pour plusieurs caractères tant dans les productions de poulets de chair (croissance lente, N'dri A *et al.*, 2007) que de poules pondeuses (Mathur *et al.*, 1994, Romé *et al.*, 2015). Par exemple, il a été démontré des interactions QTL x régime et QTL x âge pour différents caractères de production et de qualité des œufs (Romé *et al.*, 2015).

Comme décrit par Lillehammer *et al*. (Lillehammer *et al.*, 2009) chez les bovins laitiers, les polymorphismes génétiques peuvent provoquer ces interactions GxE. Certains allèles peuvent affecter à la fois la production et la sensibilité à l'environnement. Les allèles qui maintiennent ou améliorent la production tout en réduisant la sensibilité à l'environnement pourraient être de bons candidats pour la sélection assistée par marqueurs pour la robustesse. D'autres gènes peuvent contribuer à la modification du classement des animaux dans divers environnements. Dans ce cas, la sélection de l'allèle améliorateur dans un environnement peut entraîner une perte de performance dans un autre environnement. Un exemple de ce mécanisme impliquant différents gènes dans plusieurs environnements a été démontré pour l'efficacité alimentaire chez la volaille (Mignon-Grasteau *et al.*, 2010) : avec un régime maïs-soja facilement digéré, la composante génétique de l'efficacité digestive sera peu impliquée dans la variabilité de l'efficacité alimentaire, alors qu'avec un régime difficile à digérer, cette composante digestive sera plus importante, et impliquera des gènes différents, régulant plusieurs voies métaboliques.

On trouve fréquemment une corrélation génétique positive entre la production générale et la sensibilité à l'environnement ; en conséquence, la sensibilité à l'environnement augmente avec la sélection pour une haute performance (Rauw *et al.*, 2015). Ce lien néfaste peut être dû aux compromis entre les fonctions, ou "trade-offs" (Friggens *et al.*, 2017).

3.3 Importance en sélection

Les sélectionneurs sont donc confrontés à la question de savoir comment gérer ces possibles changements de classement de leurs lignées en fonction de l'environnement : est-il préférable de sélectionner les meilleurs animaux dans un environnement donné en prenant le risque que leurs performances soient fortement modifiées si les conditions environnementales changent, ou est-il préférable de sélectionner des animaux plus plastiques et plus robustes, c'est-à-dire avec des performances peut-être plus modestes mais surtout optimales dans une grande variété d'environnements ?

Dans le cas des volailles, dont les élevages de sélection et de production sont structurés en schéma pyramidal, si l'importance de l'interaction GxE est assez limitée pour les lignées en sélection qui sont élevées dans des conditions standardisées, elle devient pertinente pour les animaux en production, qui sont des croisés des lignées en sélection et qui sont élevés dans différentes parties du monde aux climats et systèmes d'élevage variés. C'est également le cas pour les productions alternatives (bio, label), qui sont élevées avec un accès extérieur, alors que les reproducteurs sont souvent élevés dans des bâtiments

fermés. La quantification de l'interaction entre génétique et environnement devient donc nécessaire pour améliorer la précision de prédiction des modèles dans différents environnements et pour fournir des reproducteurs capables d'exprimer leurs performances optimales dans une large gamme d'environnements de production. Pour y parvenir, une stratégie consisterait à prendre en compte les performances sur le terrain des individus croisés dans l'amélioration génétique des lignées pures (Esfandyari *et al.*, 2016, Duenk *et al.*, 2019). Par ailleurs, l'adaptation des animaux à l'environnement de production pendant une génération devrait conduire à une meilleure performance de la descendance finale, par exemple en transférant du pays de sélection au pays de production l'élevage des parents des individus commerciaux. L'étude de la variabilité épigénétique à grande échelle - l'un des objectifs du projet européen GEroNIMO (https://www.geronimo-h2020.eu/) -, notamment par l'analyse d'un même fond génétique dans différents environnements, devrait nous amener à mieux prédire les effets de l'environnement. A terme, ces avancées pourraient donc permettre d'optimiser les conditions de production, voire d'améliorer la sélection pour produire des animaux mieux adaptés à différents environnements de production.

Il est donc nécessaire de démêler l'impact de l'environnement sur la variation phénotypique, largement médiée par les interactions entre les composants génétiques et non génétiques, pour atteindre l'objectif d'une meilleure prédiction du phénotype d'un animal. Estimer et incorporer les effets épigénétiques dans les modèles de prédiction phénotypique en améliorera la précision. Utiliser de nouvelles connaissances sur la transmission des marques épigénétiques apposées en réponse à l'environnement permettra d'améliorer l'estimation de la valeur transmissible d'un reproducteur. Le progrès génétique pourrait alors être accéléré, en particulier pour les caractères peu héritables pour lesquels les modèles actuels ne considèrent qu'une partie de la variabilité phénotypique.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'épigénétique est un domaine de recherche récent dans les productions animales. Il est désormais reconnu que les changements environnementaux auxquels l'animal est confronté induisent des modifications épigénétiques qui ont un impact sur les phénotypes à long terme. Dans un contexte de diversification des environnements de production (changement climatique, méthodes de production plus respectueuses du bien-être et de l'environnement...), il est nécessaire de comprendre l'impact de l'environnement sur la variation phénotypique, pour optimiser les systèmes d'élevage et mieux prédire le phénotype d'un animal à partir des informations génétiques et environnementales. Une meilleure prédiction des phénotypes permettrait également de mieux anticiper l'adaptation d'un individu à un environnement particulier, notamment en développant des stratégies innovantes de programmation des phénotypes reposant sur ces empreintes épigénétiques précoces.

Le transfert de ces connaissances vers les entreprises de sélection permettrait une évaluation précise des effets épigénétiques grâce à des analyses sur de grandes populations. Ceci nécessite le développement de nouvelles méthodes de caractérisation de l'épigénome, compatibles avec une utilisation à grande échelle.

Comme la sélection génomique il y a quelques années, l'apport de la recherche épigénétique pourrait contribuer à des systèmes de production plus efficaces et plus durables en aviculture.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aggrey SE, Zhou H, Tixier-Boichard M, Weigend S, Rhoads DD, Andersson L, Bed'hom B, Chuong CM, Inaba M et Okimoto R, 2020. In: Advances in Poultry Genetics and Genomics, Burleigh Dodds Science Publishing Limited
Aigueperse N, Calandreau L et Bertin A, 2013. PLoS One, (8), e77583.
Anderson OS, Sant KE et Dolinoy DC, 2012. J Nutr Biochem, (23), 853-9.
Ayansola H, Liao C, Dong Y, Yu X, Zhang B et Wang B, 2021. Poult Sci, (100), 100945.
Baeza E, Chartrin P, Bordeau T, Lessire M, Thoby JM, Gigaud V, Blanchet M, Alinier A et Leterrier C, 2017. Poult Sci, (96), 3176-3187.
Bell JT, Pai AA, Pickrell JK, Gaffney DJ, Pique-Regi R, Degner JF, Gilad Y et Pritchard JK, 2011. Genome Biol, (12), R10.
Bernabucci U, Biffani S, Buggiotti L, Vitali A, Lacetera N et Nardone A, 2014. J. Dairy Sci., (97), 471-486.
Cardoso FF et Tempelman RJ, 2012. J Anim Sci, (90), 2130-2141.
Chen Q, Yan W et Duan E, 2016. Nature reviews. Genetics, (17), 733-743.
Cherian G, 2011. World's Poultry Science Journal, (67), 599-614.
Danchin E, Pocheville A, Rey O, Pujol B et Blanchet S, 2019. Biol Rev, (94), 259-282.
David I, Canario L, Combes S et Demars J, 2019a. Front Genet, (10), 1058.
David S-A, Mersch M, Foissac S, Collin A, Pitel F et Coustham V, 2017. Epigenomes, (1), 20.
David SA, Vitorino Carvalho A, Gimonnet C, Brionne A, Hennequet-Antier C, Piegu B, Crochet S, Courousse N, Bordeau T, Bigot Y, Collin A et Coustham V, 2019b. Front Genet, (10), 1207.
de Goede OM *et al.*, 2021. Cell, (184), 2633-2648.
Do C, Shearer A, Suzuki M, Terry MB, Gelernter J, Greally JM et Tycko B, 2017. Genome Biol, (18), 120.
Donohoe DR et Bultman SJ, 2012. J Cell Physiol, (227), 3169-77.
Duenk P, Calus MPL, Wientjes YCJ, Breen VP, Henshall JM, Hawken R et Bijma P, 2019. Genet Sel Evol, (51), 6.
Esfandyari H, Bijma P, Henryon M, Christensen OF et Sørensen AC, 2016. Genet Sel Evol, (48), 40.
Feeney A, Nilsson E et Skinner MK, 2014. J Anim Sci Biotechnol, (5), 48.
Feil R et Fraga MF, 2012. Nat Rev Genet, (13), 97-109.

Feldmann A, Ivanek R, Murr R, Gaidatzis D, Burger L et Schübeler D, 2013. PLoS genetics, (9), e1003994-e1003994.
Friggens NC, Blanc F, Berry DP et Puillet L, 2017. Animal, (11), 2237-2251.
Gao T, Zhao M, Zhang L, Li J, Yu L, Lv P, Gao F et Zhou G, 2017. J Anim Sci, (95), 3079-3092.
Gertz J, Varley KE, Reddy TE, Bowling KM, Pauli F, Parker SL, Kucera KS, Willard HF et Myers RM, 2011. PLOS Genetics, (7), e1002228.
Guerrero-Bosagna C, Morisson M, Liaubet L, Rodenburg TB, de Haas EN, Kostal L et Pitel F, 2018. Environ Epigenet, (4), dvy008.
Haldane JBS, 1946. Annals of Eugenics, (13), 197-205.
Havenstein GB, Ferket PR et Qureshi MA, 2003. Poult Sci, (82), 1500-8.
Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Savin K, van Tassell CP, Sonstegard TS et Goddard ME, 2009. PLoS One, (4), e6676.
Ho DH, Reed WL et Burggren WW, 2011. J Exp Biol, (214), 619-28.
Hu Y, Sun Q, Li X, Wang M, Cai D, Li X et Zhao R, 2015. PLoS One, (10), e0122643.
Hynd PI, Weaver S, Edwards NM, Heberle ND et Bowling M, 2016. Animal Production Science, (56), 1233-1238.
Jehl F *et al.*, 2021. Front Genet, (12), 655707.
Jha R, Singh AK, Yadav S, Berrocoso JFD et Mishra B, 2019. Front Vet Sci, (6), 82.
Kadam MM, Barekatain MR, Bhanja SK et Iji PA, 2013. J Sci Food Agric, (93), 3654-61.
Kalantar M, Hosseini SM, Hosseini MR, Kalantar MH, Farmanullah et Yang LG, 2019. Biomed Res Int, (2019), 7167525.
Kisliouk T, Ziv M et Meiri N, 2010. Dev Neurobiol, (70), 100-13.
Lagarrigue S, Lorthiois M, Degalez F, Gilot D et Derrien T, 2021. Mamm Genome, (Nov 13)
Lee J, Hyeon DY et Hwang D, 2020. Exp Mol Med, (52), 1428-1442.
Lemire M, Zaidi SHE, Ban M, Ge B, Aïssi D, Germain M, Kassam I, Wang M, Zanke BW, Gagnon F, Morange P-E, Trégouët D-A, Wells PS, Sawcer S, Gallinger S, Pastinen T et Hudson TJ, 2015. Nat Commun, (6), 6326.
Leroux S, Gourichon D, Leterrier C, Labrune Y, Coustham V, Riviere S, Zerjal T, Coville JL, Morisson M, Minvielle F et Pitel F, 2017. Genet Sel Evol, (49), 14.
Li S, Zhi L, Liu Y, Shen J, Liu L, Yao J et Yang X, 2016. Br J Nutr, (115), 411-21.
Lillehammer M, Hayes BJ, Meuwissen THE et Goddard ME, 2009. Journal of Dairy Science, (92), 4008-4017.
Loyau T, Metayer-Coustard S, Berri C, Crochet S, Cailleau-Audouin E, Sannier M, Chartrin P, Praud C, Hennequet-Antier C, Rideau N, Courousse N, Mignon-Grasteau S, Everaert N, Duclos MJ, Yahav S, Tesseraud S et Collin A, 2014. PLoS One, (9), e105339.
Loyau T, Bedrani L, Berri C, Metayer-Coustard S, Praud C, Coustham V, Mignon-Grasteau S, Duclos MJ, Tesseraud S, Rideau N, Hennequet-Antier C, Everaert N, Yahav S et Collin A, 2015. Animal, (9), 76-85.
Loyau T, Hennequet-Antier C, Coustham V, Berri C, Leduc M, Crochet S, Sannier M, Duclos MJ, Mignon-Grasteau S, Tesseraud S, Brionne A, Metayer-Coustard S, Moroldo M, Lecardonnel J, Martin P, Lagarrigue S, Yahav S et Collin A, 2016. BMC Genomics, (17), 329.
Makova KD et Hardison RC, 2015. Nat Rev Genet, (16), 213-23.
Mathur PK et Horst P, 1994. Poult Sci, (73), 1777-84.
Mersch M, David S-A, Vitorino Carvalho A, Foissac S, Collin A, Pitel F et Coustham V, 2018. INRA Productions Animales, (31), 325-336.
Mignon-Grasteau S, Juin H, Bastianelli D, Gomez J et Carré B, (2010), *World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Leipzig, Germany, 2010-08-01 / 2010-08-06.
Miska EA et Ferguson-Smith AC, 2016. Science, (354), 59-63.
Morisson M, Coustham V, FRESARD L, Collin A, Zerjal T, Metayer-Coustard S, Bodin L, Minvielle F, Brun J-M et Pitel F, 2017. In: Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics, Springer International Publishing
Mulder HA et Bijma P, 2005. J Anim Sci, (83), 49-61.
N'Dri A L, Sellier N, Tixier-Boichard M, Beaumont C et Mignon-Grasteau S, 2007. Genet Sel Evol, (39), 513-28.
Nauta WJ, Veerkamp RF, Brascamp EW et Bovenhuis H, 2006. J Dairy Sci, (89), 2729-2737.
Nyuiadzi D, Berri C, Dusart L, Travel A, Meda B, Bouvarel I, Guilloteau LA, Chartrin P, Coustham V, Praud C, Le Bihan-Duval E, Tona JK et Collin A, 2020. Poult Sci, (99), 857-868.
Oladokun S et Adewole DI, 2020. Journal of Applied Poultry Research, (29), 744-763.
Peebles ED, 2018. Poult Sci, (97), 2322-2338.
Piestun Y, Shinder D, Ruzal M, Halevy O, Brake J et Yahav S, 2008. Poult Sci, (87), 1516-25.
Rauw WM et Gomez-Raya L, 2015. Front Genet, (6), 310.
Reed WL et Clark ME, 2011. Integr Comp Biol, (51), 73-80.
Riggs AD, Martienssen RA et Russo VEA, (1996) Journal 32
Romé H, Varenne A, Hérault F, Chapuis H, Alleno C, Dehais P, Vignal A, Burlot T et Le Roy P, 2015. Genet Sel Evol, (47), 83.
Roto SM, Kwon YM et Ricke SC, 2016. Front Vet Sci, (3), 63.
Ruhl R, 2007. Proc Nutr Soc, (66), 458-69.
Shinder D, Ruzal M, Giloh M, Druyan S, Piestun Y et Yahav S, 2011. Poult Sci, (90), 633-41.
Silva L, Pinheiro-Castro N, Novaes GM, Pascoal GFL et Ong TP, 2019. Food Res Int, (125), 108646.
Skene PJ et Henikoff S, 2017. Elife, (6),
Sved J et Bird A, 1990. Proc Natl Acad Sci U S A, (87), 4692-6.
Taha-Abdelaziz K, Hodgins DC, Lammers A, Alkie TN et Sharif S, 2018. Vet Immunol Immunopathol, (201), 1-11.
Thanabalan A et Kiarie EG, 2021. Front Vet Sci, (8), 653152.
Tirado-Magallanes R, Rebbani K, Lim R, Pradhan S et Benoukraf T, 2017. Oncotarget, (8), 5629-5637.
Tzschentke B, Halle I et Nassar M, (2014), *In , XIVth European Poultry Conference : Stavanger, Nor.*,
Uni Z et Ferket RP, 2004. World's Poultry Science Journal, (60), 101-111.
Uni Z, Ferket PR, Tako E et Kedar O, 2005. Poult Sci, (84), 764-70.
Veron V, Marandel L, Liu J, Velez EJ, Lepais O, Panserat S, Skiba S et Seiliez I, 2018. BMC Genomics, (19), 677.
Vitorino Carvalho A, Hennequet-Antier C, Crochet S, Bordeau T, Courousse N, Cailleau-Audouin E, Chartrin P, Darras VM, Zerjal T, Collin A et Coustham V, 2020. PLoS One, (15), e0227700.
Vitorino Carvalho A, Hennequet-Antier C, Brionne A, Crochet S, Jimenez J, Courousse N, Collin A et Coustham V, 2021. BMC Genomics, (22), 488.
Waddington CH, 1957. In: The Strategy of the Genes: A Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology., London: George Allen & Unwin, Ltd.
Walser JC et Furano AV, 2010. Genome Res, (20), 875-82.
Wei XJ, Ni YD, Lu LZ, Grossmann R et Zhao RQ, 2011. Animal, (5), 320-7.
Yahav S et McMurtry JP, 2001. Poult Sci, (80), 1662-6.
Yan XP, Liu HH, Liu JY, Zhang RP, Wang GS, Li QQ, Wang DM, Li L et Wang JW, 2015. Poult Sci, (94), 2537-45.
Yossifoff M, Kisliouk T et Meiri N, 2008. Eur J Neurosci, (28), 2267-77.
Zhang T, Cooper S et Brockdorff N, 2015. EMBO Rep, (16), 1467-81.

Figure 1. Mécanismes épigénétiques de la programmation thermique à la chaleur chez l'oiseau.
Le traitement de manipulation thermique (MT) du poulet de chair consiste à augmenter la température d'incubation des œufs de 1,7°C de manière cyclique (12 h / j) des jours 7 à 16 d'incubation. Ce traitement induit principalement des modifications d'enrichissement de la modification post-traductionnelle H3K4me3 sur plusieurs régions du génome dans l'hypothalamus à 35 jours d'âge. L'hypothèse épigénétique est que ces modifications seraient mises en place lors de la MT, persisteraient au cours de la vie et permettraient une réponse génique adaptée des poulets en cas d'exposition ultérieure à un coup de chaleur.

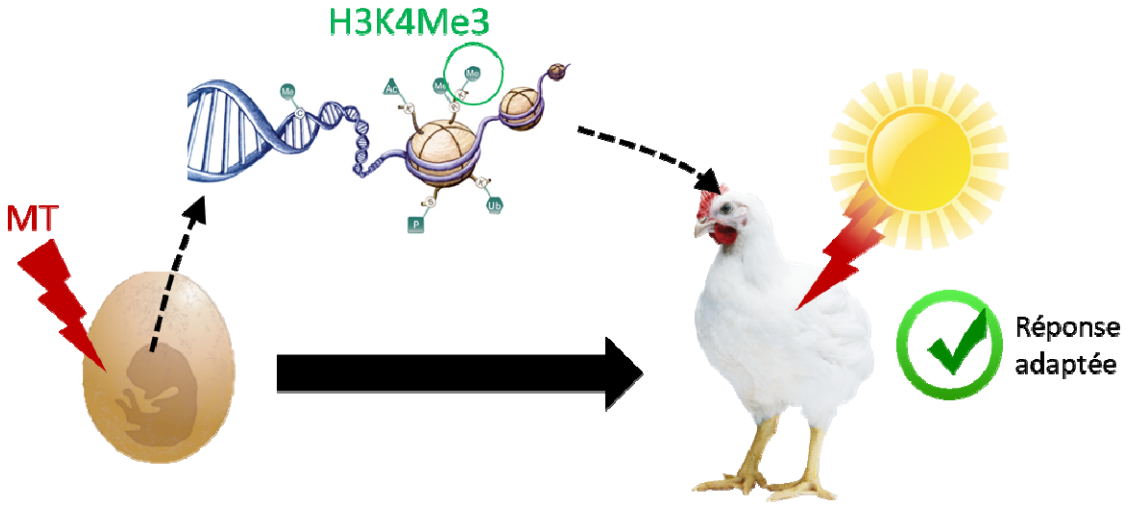
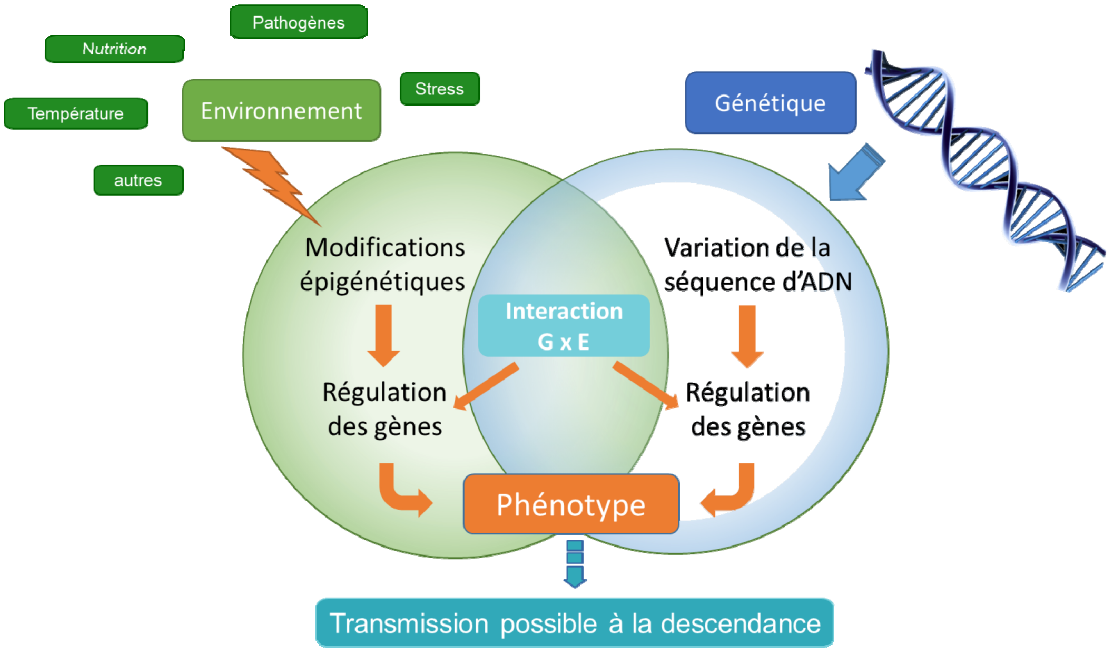


Figure 2. Interaction entre génétique et environnement dans la construction des phénotypes.
G : génétique ; E : environnement.



SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

Communications orales

PROGRAMMATION NUTRITIONNELLE DU METABOLISME HEPATIQUE CHEZ LE CANETON MULARD : ETUDE DE TRANSCRITS

Sécula Aurélie[1], Chapuis Hervé[1], Collin Anne[2], Bluy Lisa E[1], Bonnet Agnès[1], Bodin Loys[1], Manse Hélène[1], Gress Laure[1], Cornuez Alexis[3], Bernadet Marie-Dominique[3], Martin Xavier[3], Bonnefont Cécile MD[1] et Morisson Mireille[1]

[1]*GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, F-31326, CASTANET TOLOSAN*
[2]*INRAE, Université de Tours, BOA, 37380, NOUZILLY*
[3]*UEPFG INRAE Bordeaux-Aquitaine (Unité Expérimentale Palmipèdes à Foie Gras), Domaine d'Artiguères 1076, route de Haut Mauco, F-40280 BENQUET*
mireille.morisson@inrae.fr

RÉSUMÉ
Chez les oiseaux, la qualité de l'alimentation maternelle peut impacter les performances de la progéniture. Nous avons ainsi montré que chez le canard mulard, un régime alimentaire maternel restreint en méthionine (0,25% *versus* 0,40%) affecte certains paramètres du métabolisme hépatique des canetons des deux sexes. Une évaluation du niveau d'expression hépatique de 170 gènes cibles nous a permis d'identifier 55 gènes différentiellement exprimés entre les deux groupes de canetons. Parmi eux, certains concernent le métabolisme énergétique et d'autres concernent le métabolisme du monocarbone et quelques mécanismes épigénétiques. Ces changements des niveaux des transcrits, ainsi que les données phénotypiques observées, suggèrent une modulation dans l'établissement de voies métaboliques précoces pouvant ainsi constituer la base des effets à long terme observés sur le métabolisme énergétique. En effet, à 12 semaines d'âge, les mulards issus de canes restreintes en méthionine ont un taux de lipides hépatiques et un poids de gras abdominal plus faibles et, après gavage, le poids du foie gras est diminué de plus de 10 % (495 g *versus* 546 g ; P = 0,003). Ceci nous a conduits à proposer un schéma d'interactions métaboliques reliant le métabolisme du monocarbone et le métabolisme énergétique. Ces travaux soulignent le lien entre alimentation maternelle et performances de gavage chez le canard mulard.

ABSTRACT
Nutritional programming of hepatic metabolism in mule ducks: a transcript study
In farmed birds, the quantity and quality of the maternal diet can affect the production performances of the offspring. We have already shown that maternal dietary methionine restriction (0.25% *versus* 0.40%) affects parameters of liver metabolism in mule ducklings. The hepatic expression level of 170 targeted genes allowed us to identify 55 differentially expressed genes between the two groups of ducklings. Among them, some were related to energy metabolism and others concerned the one-carbon metabolism and some epigenetic mechanisms. These early changes in transcript levels, together with the observed phenotypic data, suggest modulation in the establishment of early metabolic pathways that may pave the way for long-term effects on energy metabolism. Indeed, at 12 weeks of age, mule ducks from the methionine-restricted group showed lower liver lipid percentage together with a lower abdominal fat weight. After force-feeding, fatty liver weight was reduced by more than 10% (495 g *versus* 546 g; P = 0.003). This led us to propose a metabolic interaction scheme linking one-carbon metabolism and energy metabolism. This work thus highlights the link between maternal nutrition and production performance in mule ducks.

INTRODUCTION

Les effets de la nutrition maternelle sur les phénotypes des descendants sont très documentés chez les animaux d'élevage (Chavatte-Palmer et al., 2016 ; Sinclair et al., 2016), y compris chez la volaille (Dixon et al., 2016 ; Jha et al., 2019 ; Métayer Coustard et al., 2019). Ainsi, la disponibilité en donneurs de méthyle dans l'alimentation maternelle et ses effets sur le métabolisme hépatique lors du développement embryonnaire sont très étudiés chez les mammifères et des revues récentes soulignent les interactions entre le métabolisme du monocarbone, les mécanismes épigénétiques et le métabolisme énergétique (Cai et al., 2017 ; Chango and Pogribny, 2015 ; Clare et al., 2019).

Nous avons déjà montré qu'une carence alimentaire en méthionine chez les canes Pékin (0,25% *versus* 0,40%) conduit à des œufs de plus petit poids et contenant moins de blanc, induisant ainsi une moindre disponibilité en nutriments pour le développement embryonnaire des canetons. En conséquence, nous avons observé chez ces canetons un poids à l'éclosion réduit (33,0 g *versus* 35,2 g ; $P < 0,001$) mais aussi des niveaux plasmatiques de glucose et de triglycérides plus élevés (16,4 mMol/L *versus* 10,6 mMol/L ; $P = 0,03$ et, en Log, 0,55 *versus* -0,09 ; $P = 0,01$ respectivement) et un taux plasmatique d'acides gras libres plus faible (0,27 mMol/L *versus* 0,55 mMol/L ; $P = 0,01$). Ces résultats montraient un impact de la carence maternelle en méthionine sur le métabolisme hépatique des canetons à l'éclosion (Bodin et al., 2019). Nous avons donc continué à examiner les effets de la carence maternelle en étudiant le niveau d'expression de 170 gènes dans le foie de canetons issus de canes restreintes en méthionine (Groupe R) comparativement à celui mesuré dans les foies de canetons du groupe contrôle (Groupe C). Les gènes ciblés étaient principalement liés au métabolisme énergétique, au métabolisme du monocarbone et à quelques mécanismes épigénétiques.

1. MATERIELS ET METHODES

Le protocole expérimental a reçu l'autorisation ministérielle (APAFIS#1847-2015092213418825v2) et a été réalisé conformément aux directives en vigueur (2010/63/UE). L'expérimentation a été menée à l'UEPFG (INRAE, Artiguères ; accréditation B40-037-1).

1.1. Préparation des ADNc

Des échantillons de foie congelés de 8 femelles et 10 mâles du groupe C et de 10 femelles et 10 mâles du groupe R ont été broyés et 80 à 100 mg de poudre de ces tissus ont été traités comme décrit précédemment (Voillet et al., 2018) pour en extraire l'ARN total qui a été quantifié à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop 8000 (Thermo Fisher, Illkirch, France). Son intégrité a été contrôlée par électrophorèse et avec un bioanalyseur Agilent 2100, (Agilent Technologies, Massy, France). La transcription inverse a été réalisée en présence de l'enzyme SuperScriptTM II (Invitrogen, Californie, Etats-Unis), de l'inhibiteur de ribonucléase RNasin® (Promega Corporation, Etats-Unis) et de l'oligo (dT)15 (Sigma Aldrich, France). Les ADNc ont ensuite été dilués dans de l'eau et stockés à -80°C.

1.2. Design des amorces et validation par qPCR

Les séquences des gènes cibles ont été obtenues à partir de données chez *Anas platyrhynchos* ou chez *Gallus gallus*, disponibles sur les bases de données NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/) et/ou Ensembl (http://www.ensembl.org/index.htm). Les amorces ont été conçues sur 2 exons, de part et d'autre d'un intron, en utilisant les logiciels Primer3Plus ou LightCycler® Probe Design 2.0 (Roche Applied Science). Les produits PCR ont d'abord été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % pour confirmer la taille de l'amplicon puis testés par qPCR sur QuantStudio6 (Thermo Fisher Scientific). Les valeurs Cq et l'efficacité de la PCR ont été obtenues directement à partir du logiciel QuantStudio Real-Time PCR v1.3.

1.3. PCR quantitative et analyse de l'expression des gènes

Pour conduire ces analyses, nous nous sommes référés au guide MIQE (Bustin et al., 2009). La quantification de l'expression des 170 gènes et de 5 gènes de référence potentiels a été réalisée sur puces (IFC) 96.96 Dynamic Array avec le système BioMark HD de Fluidigm et les données ont été analysées avec le logiciel d'analyse PCR Fluidigm (version 4). L'expression relative de chaque gène pour chaque échantillon a été calculée comme proposé par Pfaffl (Pfaffl, 2001). La stabilité des cinq gènes de référence potentiels a été testée à l'aide de l'algorithme GeNorm (version 3.4) (Vandesompele et al., 2002) et les trois gènes les plus stables ont été retenus comme gènes de référence. Enfin, l'expression relative de chaque gène pour chaque échantillon a été normalisée avec la moyenne géométrique des expressions relatives des trois gènes de référence retenus. Ensuite, afin d'obtenir des distributions gaussiennes, certaines expressions relatives normalisées ont été transformées soit par une fonction racine carrée, soit par une fonction logarithmique. Des ANOVA ont été menées sur les expressions relatives normalisées puis transformées, en utilisant un modèle linéaire mixte avec le logiciel ASReml (Gilmour et al., 2015). Les effets fixes du modèle sont le régime maternel, le sexe du caneton, et l'interaction régime-sexe tandis que la valeur génétique additive du caneton constitue, avec la résiduelle, les effets aléatoires. Nous avons ensuite recherché les gènes différentiellement exprimés soit

entre les deux groupes maternels (groupe C et R) soit entre les canetons mâles et femelles (effet sexe du caneton). Les gènes présentant une différence significative (p-value de l'effet < 0,05 évaluée après une correction de Benjamini-Hochberg afin de tenir compte des tests multiples) ont été considérés comme des gènes exprimés de manière différentielle (DEG).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Parmi les 170 gènes étudiés, 14 ont été retirés de l'analyse du fait d'un nombre de données manquantes supérieur à 25%. Parmi les 156 gènes restants, 55 gènes présentaient des expressions différentielles entre les deux groupes de canes (effet carence en méthionine de la cane) et 19 présentaient des expressions différentielles entre les canetons mâles et femelles (effet sexe du caneton). Enfin, 9 gènes étaient différentiels pour les deux effets et 2 d'entre eux, *FASN* et *PGK1*, montraient une interaction entre les deux effets.

1.1. Les gènes du métabolisme du monocarbone sont majoritairement sous-exprimés dans les foies des canetons du groupe carencé

Nous avons identifié 12 gènes différentiels impliqués dans le métabolisme du monocarbone (dont *MTHFD1*, *ATIC*, *GART*, *MTHFR*, *AHCY*, *AHCYL1*, …) et 4 impliqués dans des mécanismes épigénétiques (*DNMT3A*, *EZH2*, *HDAC9*, *SIRT1*). Parmi eux, 15 sont sous-exprimés dans le groupe de canetons issus de canes carencées, ce qui suggère une moindre activité du métabolisme du monocarbone ainsi qu'une moindre production d'enzymes impliquées dans des mécanismes épigénétiques. Ces hypothèses restent cependant à valider par des études d'expression protéique et/ou d'activités enzymatiques.
Quelques-autres sont impliqués dans des réponses de stress (*EEF1A1*, *ERRFI1*, *HSBP1*) ou sont des facteurs de transcription (*ESR1*, *NR3C1*) et sont, à nouveau, tous sous-exprimés dans le groupe de canetons issus de canes carencées.

1.2. La carence maternelle en méthionine affecte l'expression de gènes du métabolisme énergétique dans les foies des canetons du groupe carencé

Les autres gènes différentiels concernent différentes voies du métabolisme énergétique (glycolyse, transport d'électrons, lipogenèse *de novo*, export d'acide gras, …) ou codent pour des récepteurs nucléaires (*PPARA*, *PPARG*, *RXRA*, *PPARGC1B*). D'autres encore sont impliqués dans la régulation du stress oxydatif, l'apoptose ou les lésions hépatiques. Ces résultats peuvent suggérer quelques hypothèses quant au niveau d'activité de certaines voies métaboliques. Il est à noter par exemple, que tous les gènes différentiels de la lipogenèse *de novo* sont sur-exprimés chez les canetons du groupe R ce qui tend à montrer que cette voie métabolique serait plus active dans ce groupe de canetons. Au contraire, *CD36*, *ACLS1*, *CPT1A*, *ACADM*, *COX2*, *NDUFA4*, *NDUFB6* et *CYTB* impliqués dans le transport et le catabolisme des acides gras, ainsi que dans le transport d'électrons, sont tous sous-exprimés chez les canetons du groupe R. Ces résultats suggèrent une moindre absorption des acides gras par le foie et une moindre conversion en esters d'acyl-CoA ainsi qu'une réduction de l'activité mitochondriale dans les foies des canards du groupe R en lien avec la teneur plus faible en acides gras libres plasmatiques. Une fois encore, ces hypothèses sont à valider par des études d'expression protéique et/ou d'activités enzymatiques.

1.3. Interactions entre le métabolisme du monocarbone, les mécanismes épigénétiques et le métabolisme énergétique

Nos résultats suggèrent à la fois (i) une moindre activité du métabolisme du monocarbone et donc une moindre disponibilité en groupes méthyle et (ii) une moindre production d'enzymes impliquées dans des mécanismes épigénétiques (méthylation d'ADN, désacétylation d'histones) dans le foie des canetons du groupe R. Ceci peut conduire à modifier la structure chromatidienne ou moduler le niveau de méthylation des sites spécifiques au niveau de promoteurs de gènes et ainsi induire des modifications du niveau d'activité de certaines voies du métabolisme énergétique (Figure 1). Bien qu'elles restent à confirmer, ces modifications métaboliques établies pendant le développement embryonnaire pourraient induire les effets à long terme que nous observons sur le métabolisme énergétique. En effet, à 12 semaines d'âge, les mulards issus de canes restreintes en méthionine ont un taux de lipides hépatiques et un poids de gras abdominal plus faibles et, après gavage, le poids du foie gras est diminué de plus de 10 % (495 g *versus* 546 g ; P = 0,003) (voir l'article de Bodin et al. intitulé « Programmation nutritionnelle du métabolisme hépatique chez le canard mulard : données zootechniques » lors de ces 14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras).

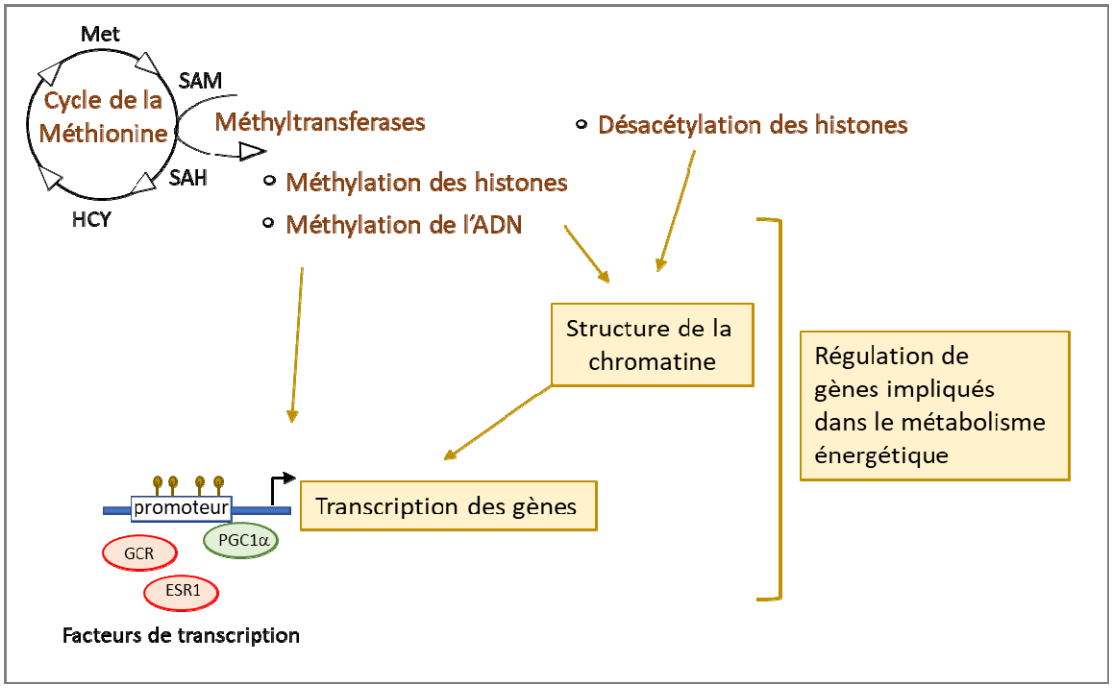
CONCLUSION

Ces travaux soulignent le rôle des donneurs de méthyle disponibles dans l'alimentation maternelle sur la programmation du métabolisme hépatique. Une fois établie, cette programmation métabolique perdure dans le temps et impacte les performances de gavage du canard mulard.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bodin L. et al. 2019. Poult Sci 98, 5590–5600.
Bustin S.A. et al. 2009. Clin Chem 55, 611–622.
Cai D. et al. 2017. In Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics, Springer International Publishing AG 2017.
Chango A. and Pogribny I.P. 2015. Nutrients 7, 2748–2770.
Chavatte-Palmer P. et al. 2016. Int J Environ Res Public Health 13.
Clare C.E. et al. 2019. Annu Rev Anim Biosci 7, 263–287.
Dixon L.M. et al. 2016. Poult Sci 95, 489–499.
Gilmour A. et al. 2015. VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.
Hou Z. et al. 2018. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 218, 30–36.
Jha, R., et al. 2019. Front Vet Sci 6, 82.
Métayer Coustard S. et al. 2019. INRA Prod. Anim. 32, 417e–430e.
Pfaffl M.W. 2001. Nucleic Acids Res 29, e45.
Sinclair K.D. et al. 2016. Reprod Fertil Dev.
Vandesompele J. et al. 2002. Genome Biol 3, RESEARCH0034.
Voillet V. et al. 2018. Mol Cell Proteomics 17, 672–693.

Figure 1 : Schéma des interactions possibles entre le métabolisme du monocarbone, les mécanismes épigénétiques et le métabolisme énergétique



MISE AU POINT D'UN PANEL D'ASSIGNATION DE PARENTE SNP UNIQUE POUR DEUX ESPECES DE CANARDS ET LEUR HYBRIDE

Sophie Brard-Fudulea[1], Hervé Chapuis[2], Sophie Leroux[2], Romuald Rouger[1], Alain Vignal[2], Christian Diot[3], Marc Teissier[2]

[1]SYSAAF, UMR BOA, Centre INRAE Val de Loire, 37380, NOUZILLY
[2] GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, F-31326, CASTANET TOLOSAN
[3]PEGASE UMR 1348, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 SAINT-GILLES,

sophie.brard-fudulea@inrae.fr

RÉSUMÉ

En espèces avicoles, l'assignation de parenté représente une alternative au suivi du pedigree réalisé via la cage individuelle et l'insémination avec la semence d'un mâle identifié. Compte-tenu des effectifs d'animaux par génération et de la valeur de chaque individu, un enjeu majeur est le coût du panel d'assignation, conditionné par le nombre de marqueurs. Un défi supplémentaire existe chez le canard, où deux espèces sont croisées pour obtenir un hybride : l'assignation du mulard nécessite des marqueurs fonctionnant chez le mulard, ainsi que chez le canard commun et le canard de Barbarie. L'objectif est le développement d'un panel d'assignation de parenté de 96 marqueurs SNP pour l'assignation de canetons Pékin, Barbarie et mulards obtenus sans recours à la cage. Compte-tenu des effectifs importants éclos par génération, il est important que le panel soit de la plus petite taille possible afin de minimiser son coût d'utilisation. A partir de la puce bi-espèce canard 670K SNP, 192 marqueurs ont été présélectionnés. Les critères de choix ont porté sur la faisabilité d'un changement de technologie, et sur la qualité et le polymorphisme des marqueurs. Les 192 marqueurs retenus ont été génotypés sur les parents des animaux des lignées expérimentales à assigner, ainsi que sur des animaux ayant des liens de filiation connus, pour un total de 334 échantillons. Les marqueurs présentant un taux de génotypage supérieur à 95% et aucune incompatibilité mendélienne ont été conservés, puis un tri a été effectué sur la fréquence allélique, et le déséquilibre de liaison. Une liste de 96 marqueurs a été proposée à l'issue de ces filtres. Les taux d'assignation élevés obtenus avec ces 96 marqueurs (autour de 98%) ont permis de valider la qualité du panel. Les 192 marqueurs utilisés étant issus d'une puce développée sur plusieurs lignées commerciales aux orientations diverses, il devrait être possible de proposer des listes de 96 marqueurs opérationnelles pour d'autres lignées.

ABSTRACT

Design of a SNP parentage assignment panel for two different species of duck and their hybrid

In avian species, parentage assignment is one of the key to get the pedigree of animals breed without cages nor insemination. To allow its use in a large number of individuals (several hundred each generation in each line), the SNP marker panel should be as cheap as possible (96 SNP). In ducks, another need is the possibility of assigning two different species, the common duck and the Muscovy duck, and also hybrids from these two species: the mules duck. The objective of this study was to develop a small SNP chip panel efficient for both species and their hybrid. First, 192 SNP from the 670K SNP chip were selected, based on the feasibility of moving from one genotyping technology to a new one, on their quality, and on their polymorphism. The 192 SNP were genotyped on 334 samples, including the parents of experimental lines for which a parentage assignment was needed, and samples already genotyped on the 670K SNP chip for validation purpose. Among the 192 SNP, the 96 best SNP were chosen based on several quality filters: call rate < 0.95, zero mendelian incompatibility, high minor allelic frequency, and low linkage disequilibrium. Progenies of the experimental lines were successfully assigned with the 96 selected SNP. As the 192 SNP used here come from a high-density SNP chip developed using several commercial breeds, specific panels of 96 SNP should be informative for parentage assignment of other breeds than the two experimental lines targeted in this study.

INTRODUCTION

La sélection du canard nécessite actuellement d'élever les reproducteurs en cages individuelles, afin de permettre l'enregistrement du pedigree qui est nécessaire pour la réalisation des évaluations génétiques. Ce mode d'élevage ne correspond cependant plus aux attentes de la société, et l'interdiction ou la restriction de l'usage de la cage est actuellement envisagée à l'échelle européenne. Pour le suivi du pedigree, une alternative à la cage est l'assignation de parenté, qui consiste à génotyper parents et descendants sur un panel restreint de marqueurs, et à utiliser l'information génomique pour reconstituer les liens de parenté. Chez le canard, un panel de microsatellites existe (Chapuis et al. 2010), mais son taux de succès est insuffisant pour une utilisation en routine. Depuis plusieurs années, ce sont les marqueurs de type Single Nucleotide Polymorphism (SNP) qui sont préférés pour ce type d'analyses, avec des taux d'assignation élevés atteignables avec un nombre restreint de marqueurs (Tortereau et al. 2017). Il est important que le panel soit de petite taille afin de limiter son coût. Chez le canard, une contrainte majeure est le besoin d'un outil unique pour les deux genres (*Anas platyrhynchos* et *Cairina moschata*) et leur hybride. Ces canards pékin, barbarie et mulards font l'objet d'un programme de recherche INRAE sur le comportement et l'efficacité alimentaire, dans lequel l'enregistrement du pedigree n'a pu se réaliser dans les conditions habituelles du fait de la pandémie de Covid-19. L'objectif de travaux présentés ici est de produire un panel SNP de petite taille en technologie KASPar à partir de la puce haute-densité 670K Axiom, afin de permettre l'assignation des animaux de ce dispositif expérimental. La technologie KASPar a été retenue en raison de son faible coût et de sa flexibilité : il est possible d'une analyse à l'autre de modifier la composition du panel si cela est nécessaire, avec pour seul coût additionnel celui de la commande des amorces des éventuels nouveaux marqueurs. Le passage de la technologie Axiom à la technologie KASPar nécessite cependant d'utiliser des amorces plus longues (50 pb au lieu de 35 pb), ce qui peut amener à écarter certains marqueurs pour lesquels du polymorphisme serait présent dans les amorces allongées. Le coût d'un génotypage étant établi par multiple de 96 marqueurs utilisés, les travaux présentés ci-après testeront 192 SNP afin d'en retenir 96 de bonne qualité pour l'objectif d'assignation de parenté. A terme, l'objectif est que les 192 marqueurs puissent également être testés et utilisés par les sélectionneurs français sur des lignées commerciales, et par les gestionnaires de races locales de canards.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Choix de 192 marqueurs pour design en technologie KASPar

La puce Axiom bi-espèce 670K SNP compte 343 950 SNP dans la librairie du canard barbarie, et 331 241 SNP dans la librairie du canard pékin. (Thébault et al. 2019) Au total, 1305 SNP sont partagés entre ces deux librairies et sont *a priori* susceptibles de fonctionner chez le mulard. Cependant, il avait été constaté dans le programme CanArray qu'en dehors de l'intersection de ces deux listes, des marqueurs de la librairie canard pékin fonctionnaient chez le canard barbarie, et inversement. La totalité des marqueurs de la puce ont donc été considérés comme candidats pour le choix des 192 marqueurs. Afin de retenir 192 marqueurs pour le design en technologie KASPar, les amorces des SNP de la puce 600K, d'une longueur de 35 paires de bases (pb) ont été allongées à 50pb en alignant les séquences des marqueurs sur les génomes de référence des deux espèces, et en éliminant les marqueurs présentant un risque de polymorphisme dans les amorces compte-tenu des polymorphismes détectés lors de la conception de la puce 670K. Seuls les marqueurs présentant exactement les mêmes séquences d'amorces et le même polymorphisme attendu dans les deux espèces ont été retenus. Le logiciel Axiom Analysis Suite (AxAS) a été utilisé pour produire les fichiers de génotypage, en ne conservant que les marqueurs de statut PolyHighResolution (taux de génotypage élevé et présence des trois génotypes possibles AA, AB et BB).
Les SNP répondant à ces exigences ont ensuite été filtrés en utilisant des échantillons de bonne qualité (moins de 5% de données manquantes) : 139 canards pékin, 79 canards barbarie, et 39 mulards (incluant 125 trios père-mère-descendant), analysés avec le logiciel Plink v2.0 (Bender et al. 2007). Les filtres suivant ont été appliqués : les marqueurs devaient avoir un call rate d'au moins 95%, aucune incompatibilité mendélienne, une fréquence de l'allèle minoritaire (MAF) d'au moins 0,10 chez le canard pékin et le canard de Barbarie, ne pas être fixés chez les mulards et être peut redondants (déséquilibre de liaison inférieur à 0,25). Les marqueurs retenus ont été soumis au laboratoire INRAE Gentyane (Clermont-Ferrand) pour design des amorces.

1.2. Sélection de 96 marqueurs pour le panel AsParCan

Afin de choisir parmi les 192 SNP retenus les 96 marqueurs qui seront utilisés pour l'assignation dans le cadre du programme DuckoDac, des échantillons ont été génotypés au laboratoire INRAE Gentyane. Il s'agissait pour les lignées expérimentales INRAE des parents des canetons à assigner (134 canards pékins et 128 canards barbarie), et d'échantillons issus du projet CanArray (44 canards pékins, 15 canards barbaries, et 13 mulards). Ces deux types d'échantillons ont été utilisés afin d'une part de sélectionner les marqueurs

les plus polymorphes dans les lignées d'intérêt, et d'autre part de valider le changement de technologie de l'Axiom vers le KASPar via des échantillons déjà génotypés sur la puce 670K. Pour réaliser les analyses, les outils suivants ont été utilisés : SNP Genotyping Analysis pour visualiser le clustering et produire les fichiers de génotypages, et Plink v2.0 pour le calcul des critères de qualité sur les échantillons et les SNP.
Les échantillons présentant beaucoup de données manquantes (plus de 50%) ont été éliminés avant d'appliquer les filtres de qualité aux SNP. Les critères suivants ont été calculés sur le jeu de données : taux de génotypage (CR), fréquence de l'allèle minoritaire intra-lignée (MAF), équilibre d'Hardy-Weinberg intra lignée (HWE), taux d'incompatibilités mendéliennes entre les échantillons CanArray entre lesquels il y avait des liens de filiation connus (11 trios et 4 duos). Trois échantillon génotypés deux fois ont été utilisés pour regarder la cohérence des deux résultats de génotypage. Les résultats du génotypage 670K en Axiom et 192 SNP en KASPar ont été comparés pour les échantillons génotypés dans les deux projets. La capacité des SNP retenus à assigner les animaux de pedigree connu a été testée en utilisant le logiciel APIS.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Choix de 192 marqueurs pour design en technologie KASPar

L'allongement des amorces des marqueurs de la puce 670K pour passer de 35 à 50 pb, sans polymorphisme dans les amorces, a permis de conserver 229 138 SNP dans la librairie barbarie, et 198 091 SNP dans la librairie pékin. L'intersection de ces deux listes comptait 399 marqueurs ayant exactement les mêmes séquences d'amorces et le même polymorphisme attendu dans les deux espèces. Ces 399 marqueurs ont été considérés comme candidats pour la constitution du panel d'assignation de parenté. Trois de ces marqueurs n'avaient pas le statut PolyHighResolution après analyse dans AxAS et ont été écartés. Seuls les échantillons présentant moins de 5% de données manquantes ont été utilisés pour filtrer les SNP sur leur qualité : après application de ce filtre, il restait 139 canards pékin, 79 canards barbarie, et 39 canards mulards.
Quarante-huit marqueurs présentant plus de 5% de données manquantes ont été éliminés. Après application du filtre sur les incompatibilités mendéliennes, il restait 336 SNP. Les filtres sur la MAF chez les pékins, barbarie et mulards a conduit à retenir 232 SNP. Le filtre sur le DL a permis d'éliminer 12 marqueurs présentant un DL supérieur à 0,25 avec d'autres marqueurs. Ce dernier filtre a permis de produire une liste de 192 marqueurs, ainsi qu'une liste complémentaire de 8 marqueurs dans le cas où pour des raisons techniques un ou plusieurs SNP de la liste principale ne pourrait être mis au point.

2.2. Sélection de 96 marqueurs pour le panel AsParCan

A l'issue du génotypage sur 192 SNP, des CR plus faibles ont été observés chez les barbarie INRAE que chez les pékin INRAE (tableau 1). Cela concerne 57 SNP, qui ont des CR compris entre 0.25 et 0.58. Ces marqueurs présentent par ailleurs des CR proches de 1 dans les échantillons barbarie CanArray. Notre hypothèse est qu'il existe du polymorphisme dans les amorces de ces marqueurs, non détectés dans CanArray (i) du fait du faible nombre d'animaux expérimentaux INRAE génotypés dans ce précédent projet (et non-séquencés), et potentiellement (ii) du fait que globalement moins de lignées barbaries que de lignées pékin ont été analysées dans le programme CanArray. Ce résultat souligne l'importance lors d'un changement de technologie de génotypage d'une part de confronter les résultats obtenus avec les deux outils, et d'autre part de prévoir pour la phase de design plus de marqueurs que l'objectif visé, afin de s'assurer que le nombre de marqueurs analysables *in fine* sera suffisant.
Six marqueurs présentant une incompatibilité mendélienne ou plus ont été écartés. Parmi les SNP restant, aucun n'avait une *P-value* inférieure à 10^{-5} pour le test d'Hardy-Weinberg.
Les SNP les moins polymorphes dans les deux lignées expérimentales INRAE (MAF < 0.15) ont été éliminés. Il restait après ce filtre 111 marqueurs. Afin de ne conserver que les SNP présentant les meilleurs taux de génotypage chez les mulards, les marqueurs ayant un CR < 0.95 chez les mulards ont été supprimés, réduisant la liste à 104 marqueurs. Huit marqueurs ont finalement été supprimés sur la qualité de leur clustering.
La figure 1 présente la distribution de la MAF des marqueurs chez les parents du dispositif pékin INRAE d'une part, et chez les parents barbarie INRAE d'autre part. Toutes les classes de MAF entre 0.15 et 0.5 sont représentées. La figure 2 permet d'observer que les marqueurs sont répartis sur 22 des 28 chromosomes et groupes de liaison du canard Commun.
Les vérifications complémentaires réalisées sur les 96 SNP sélectionnés ont donné les résultats suivants : sur les 55 échantillons génotypés à la fois en technologie Axiom et KASPar, le taux de concordance entre les deux technologies était de 0.997. Les génotypages de trois animaux analysés deux fois sur le panel KASPar ont été comparés et ont montré 100% de cohérence dans leurs résultats. Onze trios père-mère-descendant déjà validés sur puce 670K étaient présents dans le jeu de donnée KASPar : les descendants ont pu être assignés sans erreur à leurs parents.
Des places disponibles sur les plaques d'échantillons ont permis de génotyper également sur les 192 SNP des canards de races locales : 34 canards de Duclair, et 10 canards de Rouen. Les MAF moyennes calculées dans ces deux races sont respectivement de

0.26 et 0.29. Les probabilités d'identité estimées sont très faibles ($5{,}5.10^{-49}$ et $2{,}6*10^{-45}$), et les probabilités d'exclusion sont supérieures à 0.99. Ces résultats préliminaires permettent de supposer que les 192 SNP, bien que choisis pour l'assignation de deux lignées expérimentales, devraient pouvoir être également valorisés chez des races locales.

CONCLUSION

Les travaux présentés ici ont permis, à partir d'une puce Axiom haute-densité 670K, de produire un panel d'assignation de parenté de 96 marqueurs en technologie KASPar fonctionnant chez le canard pékin, le canard de barbarie, et le mulard. Le critère ayant le plus contraint le choix des SNP était leur pertinence simultanée pour les deux genres de canard et leur hybride. Les filtres appliqués ensuite sur la qualité de ces marqueurs ont permis de réduire la liste de SNP candidats aux 96 marqueurs nécessaires pour maximiser le taux de succès de l'assignation par rapport au coût de l'outil de génotypage. Le panel a été optimisé pour les deux lignées expérimentales INRAE, mais la prise en compte des génotypages de lignées commerciales devrait permettre son utilisation pour les lignées des sélectionneurs français. Les 1ers résultats de génotypage obtenus sur des individus de races locales sont prometteurs, bien que ces races n'aient pas été prises en compte dans la phase de filtre des marqueurs. La 1ère utilisation fructueuse de cet outil a été réalisée par Chapuis et al. 2022.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Département Génétique Animale INRAE pour son soutien au programme ASPARCAN dont est issu ce panel. Merci également au sélectionneur Grimaud Frères pour l'autorisation d'exploitation de leurs résultats de génotypage issus de CanArray, et à Jocelyn Marguerie (Collectif pour la Sauvegarde des Races Avicoles Normandes - CSRAN) pour la collecte des échantillons de races locales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I.W., Daly M.J., Sham P.C. 2007. American Journal of Human Genetics, 81

Chapuis H., Faugeras R., Rossignol M.N., Feve K., Genestout L., Chantry-Darmon C., Guemene D., 2010. 9èmes Journ. Rech. Palmipèdes à Foie Gras, Bordeaux, France, 1-4.

Chapuis H., Hazard A., Brard-Fudulea S., Martin X., Amadio B., Barrieu J., Mallet J.M., Morganx P., Garrigues-Cardinet G., Gilbert H. 2022. 14èmes Journ. Rech. Palmipèdes à Foie Gras, Tours, France

Thébault N., Riquet J., Diot C., Brard-Fudulea S., Guémené D., Alletru B., Cornil M., Bouleau P.,Blanchet M., le Mignon G., Demeure O., Vignal A. 2019. 13èmes Journ. Rech. Palmipèdes à Foie Gras, Tours, France

Tortereau, F., Moreno, C.R., Tosser-Klopp, G., Servin, B., Raoul, J., 2017. BMC Genet. 18, 50

Tableau 1. Taux de génotypage (CR) et Fréquence de l'Allèle Minoritaire (MAF) observés sur les 192 SNP génotypés sur les lignées expérimentales INRAE

	Taux de génotypage par SNP		**Fréquence de l'allèle minoritaire**	
	Pékin INRAE	Barbarie INRAE	Pékin INRAE	Barbarie INRAE
Minimum	0.84	0.25	0.02	0.05
Médiane	1.00	0.99	0.34	0.32
Maximum	1.00	1.00	0.50	0.50

Figure 1. Distribution de la MAF des 96 marqueurs du panel d'assignation dans les lignées expérimentales INRAE pékin (à gauche) et barbarie (à droite)

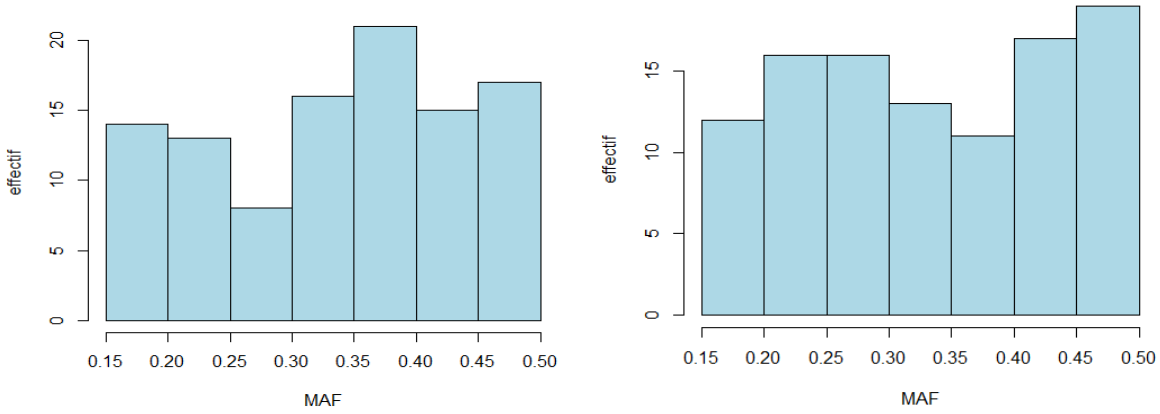
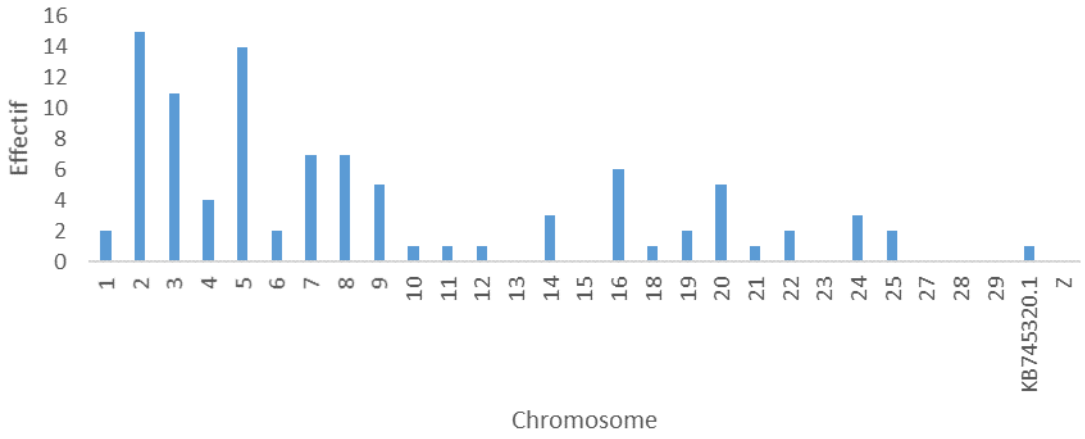


Figure 2. Répartition des 96 SNP du panel d'assignation entre les chromosomes



CONSTRUCTION A POSTERIORI DU PEDIGREE D'UNE POPULATION EXPERIMENTALE DE CANARDS A L'AIDE D'OUTILS MOLECULAIRES

Chapuis Hervé[1], Hazard Azélie[2], Brard-Fudulea Sophie[3], Martin Xavier[2], Amadio Bruno[2], Barrieu Josette[2], Mallet Jean-Marc[2], Morganx Philippe[2], Garrigues-Cardinet Gaelle[2] et Gilbert Hélène[1]

[1]GenPhySE - Université de Toulouse INRAE ENVT - 31326 Castanet Tolosan
[2]UEPFG INRAE - 1076 route de Haut-Mauco, 40280 Benquet
[3]SYSAAF- UMR BOA - Centre INRAE Val de Loire, 37380 Nouzilly
herve.chapuis@inrae.fr

RÉSUMÉ

L'entrée en vigueur de la directive 2010/63/UE relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques a conduit l'Unité Expérimentale des Palmipèdes à Foie Gras (INRAE) à reconsidérer la conduite de ses lignées nécessitant la connaissance du pedigree. Pour connaitre la généalogie de 3 populations de canards (Pékin, Barbarie et leur hybride mulard) dans un programme expérimental en cours, il s'agissait de concevoir un plan d'accouplement au sol (sans recourir aux cages individuelles pour les femelles) compatible avec l'utilisation d'un panel de 96 marqueurs SNP développé parallèlement. Dans chaque cellule (3 par population parentale) environ 32 femelles étaient réparties en 4 groupes de 8 pour les canes de Barbarie ou 3 groupes de 11 pour les canes Pékin. Chacun de de ces groupes était inséminé par la semence mélangée d'un pool de 4 mâles. On a donc remplacé un schéma hiérarchique classique en volailles (1 ♂ et k ♀) par un schéma factoriel (p ♂ et q ♀) habituellement rencontré en aquaculture. Les groupes de reproducteurs étaient constitués de façon à faciliter l'assignation, c'est-à-dire en évitant de rassembler des frères ou des sœurs au sein du même groupe. La consanguinité attendue a également été limitée en évitant les pères communs entre groupes de ♂ et de ♀ associés. Malgré la taille réduite du panel (96 marqueurs), son pouvoir d'assignation et la connaissance du plan d'accouplement et de la cellule où l'œuf a été ramassé ont permis la réassignation à un couple unique pour plus de 96% des individus en mulards et Pékin. Pour les Barbarie, l'absence d'une dizaine de génotypes parentaux a fait chuter ce succès à 88%. Sous réserve de pouvoir contrôler la ponte, ce type de panel concourt, pour un coût limité, à la mise en œuvre d'alternatives à la cage individuelle en sélection.

ABSTRACT

Parentage assignment in three duck experimental lines using a set o 96 molecular markers.

With the 2010/63/UE directive coming into force, the INRAE experimental facilities dealing with waterfowl had to imagine a new scheme in order to produce cohorts of offspring of known pedigree in three populations of ducks without resorting to cages for layers. A set of 96 SNP markers was therefore used to obtain pedigree knowledge through parentage assignment. In each parental population, roughly 96 dams were dispatched in 3 cells. Within each cell, they were split into 3 or 4 groups, and were inseminated using a mixed pool of semen from 3 to 4 drakes. The hierarchical mating design commonly used in poultry breeding was therefore replaced with a factorial design. In order to avoid tricky situations in the parentage assignment, such as a difficulty to find which of two brothers is the true sire (conversely which of two sisters is the true dam), groups of parents were built so that no sibs were pooled together. Despite the limited number of markers, assignment success was very high (above 96%) for common and mule offspring. Missing parents led to a reduced success rate (88%) for Muscovy offspring. Therefore, this set of markers offers a possible alternative to individual cages, including in breeding companies which are concerned by the forthcoming EU ban of cages, provided the availability of a tool allowing for the control of laying performances of females.

INTRODUCTION

Que ce soit dans les firmes de sélection ou dans les unités expérimentales œuvrant dans le domaine de la génétique animale, la connaissance du pedigree est une condition indispensable pour la conduite d'un programme de sélection efficace. Pour les espèces avicoles, il est habituel (et souvent suffisant) de relier l'œuf ramassé à la femelle qui l'a pondu. Si le schéma de reproduction est hiérarchique (un mâle est accouplé à plusieurs femelles, mais celles-ci sont inséminées par la semence d'un mâle unique), la connaissance, lors de l'éclosion, de la mère du poussin permet de construire la généalogie des populations. Pour assurer la liaison entre l'œuf et la femelle qui l'a pondu, les solutions les plus courantes sont la cage individuelle ou le nid-trappe. Dans cette dernière situation les femelles sont élevées au sol et ont accès à des nids d'où elles ne peuvent sortir qu'avec l'aide d'un humain qui, à cette occasion, relève l'identification de la femelle et la reporte sur la coquille de l'œuf ramassé. Cette technique nécessite une main d'œuvre fortement disponible pour effectuer une tâche pénible (il faut se pencher pour ramasser les œufs). Par ailleurs elle peut entraîner des comportements de ponte hors du nid, qui représentent alors une perte sèche pour le schéma de sélection, car les œufs non identifiés sont inutilisables.

La cage individuelle permet un ramassage et une identification plus aisés des œufs. Cependant ce système est décrié car il empêche l'expression de comportements sociaux et est donc contraire au bien-être animal. En juin 2021, suite à l'Initiative Citoyenne Européenne (ICE) intitulée « End the cage age » déposée en octobre 2020, la Commission Européenne s'est engagée à présenter une proposition législative pour une entrée en vigueur en 2027.

Depuis les années 1990, dans les populations aquacoles, il est possible d'identifier les parents d'un individu grâce à des marqueurs moléculaires hautement polymorphes (microsatellites), sous réserve que l'animal et ses parents aient été génotypés avec un nombre suffisant de marqueurs (Herbinger, 1995 ; Estoup et al, 1998). A partir de 2008 un panel de microsatellites (Chapuis et al, 2010) a été développé pour les populations canard avec l'objectif de permettre l'assignation à la fois chez les canards communs et les canards de Barbarie. Ses performances ont été décevantes car la vingtaine de marqueurs utilisées, même s'ils répondaient dans les deux populations (dont la divergence remonte à plusieurs millions d'années), n'étaient pas assez polymorphes.

La technologie de référence maintenant utilisée pour l'assignation fait appel aux marqueurs SNP, utilisés dans de nombreuses espèces dont les bovins (Barbotte et al, 2012), et les petits ruminants (Tortereau et al, 2017).

Nous décrivons ici la mise en place opérationnelle d'un jeu de 96 marqueurs SNP (pour les propriétés du panel, se référer à Brard Fudulea et al, 2022) dans 3 populations expérimentales INRAE, de la conception du plan d'accouplement aux résultats de l'assignation et tâchons d'en tirer des enseignements pour une généralisation aux entreprises de sélection avicoles.

1. MATERIELS ET METHODES

Les protocoles expérimentaux et les soins aux animaux ont été réalisés conformément à la directive européenne (2010/63/UE) et à leur déclinaison française. L'expérimentation a été menée à l'UEPFG-INRAE (numéro d'accréditation C40-037-1).

1.1. Schéma de reproduction

Les populations expérimentales PEK77, BAR11 et MUL17 étaient utilisées dans la conduite du protocole DUCKODAC (autorisation ministérielle APAFIS# 2018013116519672).

Suite aux évolutions de législation, la conduite de la dernière phase du protocole a été conditionnée à l'abandon des cages individuelles pour les femelles reproductrices. La surface des cages des mâles a, quant à elle, été agrandie afin de maintenir les mâles dans un hébergement qui permette la manipulation aisée des individus pour le prélèvement de la semence, évite les phénomènes de compétition et de bagarres qui engendrent blessures et souffrances, mais permette l'expression de comportements naturels.

Pour la dernière génération, le schéma a été dimensionné pour un effectif de 36 mâles reproducteurs et 99 femelles en Pékin, 48 mâles et 96 femelles reproductrices en Barbarie.

Afin de respecter la directive 2010/63/UE, le choix a été fait de laisser les canes au sol, afin qu'elles puissent exprimer les comportements sociaux propres à leur espèce dans des cellules (3 par population parentale) de 35 m² (5 m x 7m) avec un sol en caillebotis. Nous avons utilisé des nids individuels fermés (base 30x30 cm, hauteur 38 cm) pour les canes de Barbarie, et des nids collectifs (sans toit) pour les canes Pékin. Cette différence était due au comportement nidificateur particulier des canes de Barbarie, qui privilégient la présence d'un toit (Bilsing, 1991). Les nids étaient régulièrement garnis de copeaux de bois pour favoriser la ponte.

Afin de faciliter les chantiers d'insémination et d'éviter la lecture des bagues alaires pour identifier la cane à inséminer avec une semence donnée, nous sommes passés du schéma d'accouplements hiérarchiques habituel (1 mâle pour k femelles) à un schéma factoriel.

Au sein de chaque cellule, les femelles ont été réparties en 4 groupes de 8 (BAR11) ou 3 groupes de 11 (PEK77), repérés à l'aide d'une bague de couleur différente posée à la patte.

Parallèlement, les mâles ont été répartis en 12 groupes (production des Barbaries) ou en 9 groupes

(production des mulards et Pékins). La semence des mâles de chaque groupe était diluée avec le milieu de survie de semence avicole FertiMAX LC (MIO) et mélangée pour constituer un pool de semence. Tout au long de la période de reproduction, un groupe de femelles a toujours été inséminé avec le pool de semence du même groupe de mâle.
La contribution de chaque mâle au pool de semence était calculée en fonction de la densité optique de chaque éjaculat. Conformément aux pratiques usuelles en multiplication, l'objectif était d'apporter 100 millions de spermatozoïdes par insémination aux femelles Barbarie et 150 millions aux femelles Pékin, avec une contribution équilibrée entre les différents mâles.

1.2. Organisation de l'éclosion

Le principe était de baguer les canetons éclos jusqu'à atteinte de l'effectif visé (190 Barbaries mâles, 250 mulards mâles, et 280 Pékins dont 90 mâles et 190 femelles). L'objectif du programme expérimental DUCKODAC étant l'estimation de paramètres génétiques, nous avons cherché à maximiser la représentation des familles au sein des canetons conservés. Pour ce faire, à l'issue du second mirage, juste avant le passage en éclosoir, les œufs ont été classés dans des paniers en fonction de la cellule et du jour du ramassage. En priorisant les jours où il y a le plus d'œufs on optimise les chances d'avoir des canetons de mères différentes. Lors de l'éclosion nous avons noté la correspondance entre la bague posée sur le caneton et la cellule où fut ramassé l'œuf dont il était éclos.

1.3. Assignation des couples parentaux

L'assignation a été effectuée à l'aide du package R APIS (Griot et al, 2020).
Le principe consiste à calculer pour tous les trios « descendant-père-mère » possibles une probabilité de transmission mendélienne, en fonction des génotypes à tous les marqueurs. Un seuil, qui est fonction du taux de fausses assignations que l'on est prêt à accepter, doit ensuite être calculé afin de décider si le couple parental le plus probable est le vrai couple parental. Ce programme R permet également une construction alternative du pedigree en utilisant la méthode d'exclusion. Dans ce cas il utilise les incohérences mendéliennes pour exclure les couples parentaux (un descendant homozygote XX à un locus donné ne peut avoir un parent YY à ce même locus). Si le panel est suffisamment informatif, les parents potentiels sont progressivement exclus et à la fin il ne reste que le vrai couple parental. Il faut cependant également tenir compte des éventuelles erreurs de génotypage ou des génotypes absents à l'un ou l'autre des marqueurs (nous avons fixé un call rate minimal de 95%, fixant ainsi à 5 le nombre maximal de marqueurs absents pour un animal, sous peine d'exclusion du processus d'assignation).
La connaissance du plan d'accouplements nous a également permis d'établir une liste exhaustive des couples possibles afin de confronter les résultats du logiciel d'assignation aux éléments factuels à disposition.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Taux d'assignation

Les taux d'assignation à un couple unique sont excellents pour les animaux : 204 sur 207 soit 98% pour les mulards et 261 sur 273 soit 96% pour les Pékins. Pour les canards de Barbarie, le succès était moindre, en chutant à 88% (138 sur 157). Ceci s'explique par l'absence de 16 échantillons parentaux (14 femelles et 2 mâles) dans les ADN traités par le laboratoire. L'utilisation d'une puce supplémentaire pour obtenir le génotype de ces parents et repasser les quelques descendants présentant un call rate insuffisant devrait, espère-t-on, permettre d'atteindre un taux au-delà de 98% de succès sur l'ensemble des 3 populations.
Ceci montre que le principal facteur limitant pour l'assignation est l'absence d'un ou deux parents. Le logiciel a alors « bien réagi » en n'assignant pas les animaux concernés. Une autre cause d'échec est purement technique : il s'agit de la condition imposée sur le call rate. Pour prévenir ces difficultés le plus grand soin doit être apporté à la conservation des échantillons et l'extraction de l'ADN.

2.2. Apports du plan d'accouplement

Dans un cas, en Barbarie, le logiciel ne pouvait statuer entre 2 couples potentiels. Il s'agissait du même mâle associé à deux femelles différentes. La connaissance du plan d'accouplement a permis d'exclure un couple a priori impossible. La prise en compte de cette information nous a également permis de corriger une fausse assignation, en mulards cette fois. Contrairement au verdict du logiciel, le couple parental présentant la plus forte probabilité mendélienne ne pouvait être le bon, compte tenu des accouplements pratiqués et de la cellule de ramassage de l'œuf dont était issu le caneton. Le second couple parental le plus probable (constitué du même mâle et d'une femelle peu apparentée à la première), en revanche satisfaisait toutes les contraintes, tout en présentant également une très forte probabilité mendélienne. La différence de probabilité n'était que de 0,0039 avec le premier couple tandis qu'elle était supérieure à 0,16 avec le couple de rang 3. Par conséquent le couple de rang 2 pour la probabilité mendélienne a été considéré comme le vrai couple. Ceci démontre que les excellentes propriétés du panel, associées à la connaissance du plan d'accouplement sécurisent pleinement la construction du pedigree.

2.3. Conséquences sur la structure de la population

Contrairement au système précédent (cages individuelles et schéma hiérarchique), on ne peut contrôler dès l'éclosion la taille des familles. Cette information n'est obtenue qu'a posteriori. Compte tenu du cout du génotypage, le gestionnaire peut être tenté de n'assigner que juste avant la mise en reproduction, après avoir effectué un tri sur des critères n'utilisant pas le pedigree. Les conséquences au long cours sur la consanguinité des populations doivent être étudiées pour conseiller les entreprises de sélection sur la taille des croisements à pratiquer.

Dans le tableau 1, nous avons rapporté, pour chaque population produite, la proportion des femelles ayant eu au moins un descendant avec un nombre de mâles donné. Auparavant, 100% des femelles étaient croisés avec un seul mâle. Dans ce nouveau système, plus de la moitié des femelles étaient croisées avec au moins deux mâles. Ceci peut ouvrir la voie à l'estimation de paramètres du croisement (dominance), mais uniquement avec une taille de population suffisante.

Dans le tableau 2, nous avons résumé la structure familiale (taille des familles de mères) dans les 3 générations successives de mulards du programme DUCKODAC. Les deux premières (M1,M2) étaient produites avec un système hiérarchique et des cages individuelles. Seul le dernier cheptel (M3) a été obtenu avec des femelles au sol. On constate d'abord que seules 69 femelles ont eu des descendants mâles dans la dernière génération. Nous n'avons pas de relevé individuel de ponte permettant de conclure qu'un nombre plus élevé de canes n'a pas pondu, par comparaison avec un hébergement en cage, sachant que seuls les œufs ramassés dans les nids ont été incubés et qu'on ignore la proportion d'œufs pondus au sol. Quoiqu'il en soit, nous avons obtenu moins de canetons qu'attendu. Si la taille moyenne des familles de mères est comparable au cheptel M1 (alors que l'effectif de canards nés en M1 était 20% supérieur à l'effectif en M3), on constate que la variance est nettement plus élevée (3.4 en M3 *vs.* 0.49 en M1). Nous présumions qu'en l'absence de contrôle, la variance de la taille des familles était susceptible d'augmenter, et nous en avons eu la démonstration.

Par ailleurs 8,2% des individus M3 sont l'unique descendant de leur mère (contre 3.5% en M2 et 1.6% en M1) et 23% sont issus de familles maternelles d'au plus deux représentants, ce qui peut poser des problèmes pour l'estimation des paramètres génétiques.

CONCLUSION

Grâce à l'utilisation d'un panel de taille réduite (96 marqueurs pour une technologie KASPar) nous sommes parvenus à reconstituer le pedigree de nos populations expérimentales.

En cas d'interdiction des cages dans l'Union Européenne, ce panel pourra être utilisé dans les populations commerciales où la sélection génomique (qui repose sur des génotypes haut débit plus couteux et dont l'assignation de parenté est un sous-produit) n'est pas pratiquée. Il peut également être utilisé pour la gestion de ressources zoogénétiques telles que les races locales, dans le cadre de programmes financés par les collectivités territoriales. Des calculs préliminaires de la probabilité d'exclusion (un des indicateurs de la qualité du panel) ont été conduits dans quelques races locales et ont donné des résultats encourageants qui restent toutefois à confirmer.

Nous avons montré que la connaissance du plan d'accouplement, bien que non strictement nécessaire, compte tenu des qualités intrinsèques du panel, est un outil particulièrement utile pour pleinement sécuriser la construction du pedigree, surtout dans des populations dans lesquelles les reproducteurs sont apparentés.

Un travail de modélisation est nécessaire pour dimensionner au mieux les plans d'accouplements en tenant compte des modifications dans la structure des populations, et identifier les risques en termes de gestion de la diversité qui pourraient émerger dans ce type de système.

Enfin il convient de rappeler que l'abandon de la cage pour les femelles à l'étage de sélection, non seulement nécessite un outil pour suivre la généalogie (ce qui semble être acquis ici) mais requiert également un dispositif permettant de contrôler la ponte des femelles, qui est une donnée essentielle dans de nombreuses populations. Comme l'ont montré des travaux récemment conduits chez la poule pondeuse (Becot et al, 2022), la mise au point de nids électroniques sera de nature à mieux caractériser les comportements de ponte et, *in fine,* améliorer la productivité des canes en reproduction au sol.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Département Génétique Animale INRAE pour son soutien au programme ASPARCAN dont est issu ce panel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Barbotte L., Genestout L, Fritz S., Chantry-Darmon C., Boichard D., 2012, 19èmes Renc. Rech. Ruminants, p 92
Bécot L., Bédère N., Coton J., Burlot T. Le Roy P., 2022 ; 14èmes JRAPFG, Tours, 9 et 10 mars 2022
Brard-Fudulea S., Chapuis H., Leroux S., Rouger R., Teissier M., 2022, 14èmes JRAPFG, Tours, 9 et 10 mars 2022
Bilsing A, 1991, KTBL-Schrift, Kuratorium fuer Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft
Chapuis H., Faugeras R., Rossignol M.N., Feve K., Genestout L., Chantry-Darmon C., Guemene D., 2010. 9èmes Journ. Rech. Palmipèdes à Foie Gras, Bordeaux, France, 1-4.
Estoup, A., Gharbi, K., SanCristobal, M., Chevalet, C., Haffray, P., Guyomard, R., 1998, Can. J. Fish. Aquat. Sci., (55), 715–725.
Griot R., Allal F., Brard-Fuduléa S., Morvezen R., Haffray P., Phocas F, Vandeputte M., 2020, Mol. Ecol. Resour.,(20), 579–590
Herbinger, C.M., 1995, Aquaculture, (137), 245–256.
Tortereau F., Moreno C., Tosser-Klopp G., Servin B., Raoul J., 2017, BMC Genetics, 18 :50

Tableau 1. Proportion de femelles ayant eu des descendants génotypés dans chaque population avec exactement *n* mâles depuis le passage du schéma hiérarchique au schéma factoriel.

n = nombre de mâles	BAR11	MUL17	PEK77
4		33%	12%
3	16%	41%	30%
2	36%	20%	27%
1	48%	6%	30%

Tableau 2. Structure familiale des 3 cheptels mulards successifs du programme DUCKODAC. Nanim = effectif mis en place. Nmères = nombre de mères ayant effectivement contribué à la génération. La taille de famille de mère ne concerne que les descendants mâles, élevés dans le cadre du programme.

cheptel	N anim	N mères	taille famille de mère									MOY	VAR
			1	2	3	4	5	6	7	8	9		
M1	247	**87**	4	17	55	11						2,83	0,49
M2	282	**84**	10	15	22	18	14	2	2	1		3,35	2,33
M3	204	**69**	18	14	15	11	4	2	4		1	2,96	3,40

ETABLISSEMENT D'UNE STRATEGIE DE GESTION GENETIQUE *IN SITU* POUR LA RACE LOCALE « NOIRE DE CHALLANS »

Romuald Rouger[1], Hervé Deloison[2], Marc Teissier[3], Gwendal Restoux[4], Daniel Guémené[1], Sophie Brard-Fudulea[1]

[1]SYSAAF, UMR BOA, Centre INRAE Val de Loire, 37380 NOUZILLY
[2]Association pour la sauvegarde et la valorisation, 52, le broussais, 44460 SAINT NICOLAS DE REDON
[3]GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31326 CASTANET TOLOSAN
[4]INRAE, Université Paris Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350 JOUY-EN-JOSAS
romuald.rouger@inrae.fr

RÉSUMÉ

La poule Noire de Challans est une race locale originaire de la région s'étendant entre Nantes et Challans en Vendée. La population est actuellement maintenue dans son aire de répartition grâce à l'activité de plusieurs éleveurs assurant le renouvellement des cheptels. A l'instar de nombreuses races locales, la gestion génétique de la population est difficile en raison de généalogies imparfaitement connues. Le but de cette étude a été de mettre en place une gestion *in situ* de la diversité génétique de la Noire de Challans par l'utilisation de marqueurs moléculaires. Quatre-vingt-seize marqueurs SNPs ont été sélectionnés à partir d'une liste obtenue lors de travaux antérieurs. Testés au sein de la population de Noire de Challans, ces marqueurs présentent un niveau élevé de diversité (Fréquence moyenne de l'allèle minoritaire égale à 0.358). Un léger déficit en hétérozygote causé par un effet Wahlund a été détecté dans la population. Une analyse *in silico* a ensuite permis de confirmer que les marqueurs choisis étaient parfaitement compatibles avec leur utilisation dans le cadre d'une assignation de parenté chez la Noire de Challans (probabilité d'identité de 4.24×10^{-27} et probabilité d'exclusion de 0.999). Finalement, une procédure itérative reposant sur un algorithme de type "recuit-simulé" a été mise en place afin de définir le plan de croisements permettant de maximiser la distance génétique moléculaire observée entre mâles et femelles à associer. La reconstruction *a posteriori* du pedigree à l'aide de ces marqueurs permettra de gérer *in situ* les populations de Noire de Challans en limitant l'accroissement de la consanguinité. Ces résultats représentent une preuve de concept qu'il sera possible d'étendre à d'autres races locales pour lesquelles les informations généalogiques sont partielles ou absentes.

ABSTRACT
Development of an *in situ* genetic management strategy of the local breed "Noire de Challans"

"Noire de Challans" is a local breed originating from the area located between Nantes and Challans in Vendée (France). The population is maintained within its geographic range thanks to several farmers breeding the animals to ensure the permanency of the flock. As in many local breeds, genetic management of this population is difficult because of incomplete or sparse pedigrees. The goal of this study was to develop a management strategy of the genetic diversity within the breed "Noire de Challans" using molecular markers. Ninety-six SNP markers have been selected from a list obtained through a previous project. Within "Noire de Challans", these markers displayed a high level of diversity (the average minor allele frequency is 0.358). A slight heterozygote deficit caused by a Wahlund effect has been detected within the population. An *in silico* analysis confirmed that this set of markers is perfectly suitable for parentage assignment within the breed (probability of identity: 4.24×10^{-27}, exclusion probability: 0.999). Finally, optimal mating plans were designed using an iterative procedure based on a simulated annealing algorithm to maximise the molecular distance between sires and dams. This posterior reconstruction of the pedigrees using these molecular markers allows the genetic management of the "Noire de Challans" by limiting the increase of inbreeding within the population. This proof of concept can be transferred to other local breeds for which genealogical information is often rare or inaccurate.

INTRODUCTION

Lors du dernier recensement, datant de 2014, 47 races locales de poules étaient dénombrées en France. Parmi celles-ci, 45 étaient considérées comme menacées d'abandon pour l'agriculture souvent à cause d'un suivi insuffisant pour garantir la pérennité démographique et/ou génétique des cheptels (Audiot et al., 2015). A l'instar des protocoles mis en place pour les lignées à vocation commerciale, certaines associations de races font donc appel à des structures comme le Centre de Sélection de Béchanne (CSB) et le Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF) qui disposent des capacités logistiques et statistiques permettant d'assurer un tel suivi. Pour ces races, l'enregistrement rigoureux du pedigree par le CSB permet au SYSAAF de calculer l'apparentement entre animaux puis de proposer des plans d'accouplements optimaux du point de vue de la gestion génétique du cheptel. Malheureusement, pour la majorité des races conservées les ressources logistiques manquent pour garantir leur sauvegarde sur le long terme.

La poule Noire de Challans fait partie de la liste des races menacées d'abandon pour l'agriculture. Originaire du marais breton-vendéen, cette race rustique est particulièrement adaptée aux conditions de vent et d'humidité qui y règnent. La population de Noire de Challans est gérée par la douzaine d'éleveurs membre de l'association pour la sauvegarde et la valorisation de la poule Noire de Challans. L'association assure jusqu'à présent le renouvellement du cheptel. La gestion génétique de ce cheptel est surtout menée de façon empirique. Le nombre d'animaux reproducteurs est faible (entre 70 et 80 au niveau de l'association, estimée entre 200 et 300 au niveau de la race, H. Deloison comm. pers.), la généalogie des individus n'est connue que de façon parcellaire et le noyau de renouvellement est souvent complémenté avec des individus provenant d'origines diverses. En l'état, il est donc impossible d'appliquer une stratégie de conservation génétique se basant sur le pedigree des animaux pour gérer l'évolution de la diversité génétique dans la population (i.e. Contrôle de la consanguinité). Le but du présent travail est donc de tirer profit de récents développements techniques pour mettre au point une méthode de gestion utilisant comme donnée d'entrée la distance génétique moléculaire entre animaux. Ce travail se partage en trois phases distinctes :

1) Tester l'utilisation d'une puce 96 marqueurs SNPs développée lors d'un projet antérieur sur une population non étudiée jusqu'à présent (Noire de Challans).

2) A l'aide de ces marqueurs, décrire le niveau de diversité génétique initial dans la population de Noire de Challans.

3) Développer une procédure spécifique afin de définir un plan d'accouplements permettant de gérer au mieux la diversité génétique dans la population.

1. MATERIELS ET METHODES

Au total, 54 animaux considérés comme candidats à la reproduction ont été prélevés (15 mâles et 39 femelles provenant de 5 origines distinctes, H. Deloison comm. pers.) par l'association pour la sauvegarde et la valorisation de la poule Noire de Challans. Un morceau de crête de chaque animal a été prélevé puis conservé au réfrigérateur. Les échantillons ont ensuite été disposés en plaque 96 puits puis envoyés à la plateforme Gentyane (UMR INRAE 1095, Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales) pour extraction d'ADN. L'ADN a été extrait à l'aide du kit d'extraction AGENCOURT-GENFIND V2 (Beckman Coulter).

1.1. Choix du panel de marqueurs et génotypage

La définition du panel de marqueurs utilisé sur cette population s'appuie sur les travaux initiaux et successifs de Gwendal Restoux (INRAE) et de Marc Teissier (SYSAAF) dans le cadre du projet RefGenDivA. Ce projet, financé par le Centre de Ressources Biologiques des Animaux domestiques (CRB-Anim) avait notamment pour objectif de caractériser la diversité génétique des races locales françaises. Des individus provenant de 27 populations de poules différentes ont été génotypés à l'aide d'une puce Illumina 57K (Restoux *et al.*, en relecture). Sur la base de ce génotypage, une première liste de 1109 marqueurs a été définie en vue de leur utilisation en assignation de parenté. Ces marqueurs ont été choisis sur la base de leur niveau de diversité génétique intrinsèque à l'intérieur des 27 races étudiées (Fréquence de l'allèle minoritaire, i.e. MAF, la plus élevée possible, conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg).

Un génotypage complémentaire de 10 nouvelles populations tests comportant chacune des trios parents-descendants a été effectué afin de contrôler la ségrégation mendélienne des 1109 marqueurs. A partir de cette liste de 1109 marqueurs, des panels de différentes tailles (48, 96 et 192 marqueurs), de niveau de diversité variable (MAF>0,15 ; MAF>0,20 ; MAF>0,25) et dont la distribution des marqueurs le long du génome varie (fenêtre de 2, 4 et 6Mbp) ont été simulés (résultats disponibles sur demande). Sur la base de cette analyse, un panel répondant aux caractéristiques suivantes a été sélectionné pour analyser la population de Noire de Challans :

- Quatre-vingt-seize marqueurs,
- MAF supérieure à 0,25 dans au moins 27 des 37 populations génotypées,
- Un seul SNP possible par fenêtre non chevauchante de 6Mbp le long du génome.

Le génotypage de chaque individu aux 96 marqueurs définis préalablement a été effectué par chimie KASPar couplée à une lecture au LightCycler®480 (Roche LifeScience) sur la platefome Gentyane. Les signaux de fluorescence ont ensuite été analysés sur le logiciel Fluidigm SNP Genotyping Analysis. Parmi les 96 marqueurs utilisés, 26 présentait plus de 10% de données manquantes, soit à cause d'un manque d'amplification ou à cause d'un manque de définition claire des clusters de génotypage. Ces marqueurs ont donc été retirés de l'analyse.

1.2. Analyse statistique et assignation de parenté

Sur la base des 70 marqueurs restants, les statistiques descriptives de diversité génétique et une Analyse en Composantes Principales (ACP) ont été obtenues à l'aide du package hierfstat (Goudet, 2005) du logiciel R. Pour juger de l'intérêt potentiel de ce panel de marqueurs en assignation de parenté, la probabilité d'identité (i.e. la probabilité que deux individus possèdent le même génotype par hasard) et la probabilité d'exclusion d'un parent (i.e. la probabilité d'exclure un parent sachant que ce n'est pas le vrai parent) ont été calculées (Jamieson & Taylor, 1997).
Les génotypes de mille descendants issus de la population analysée ont été simulés à l'aide d'un script R développé spécifiquement. Chacun de ces descendants simulés a ensuite été réassigné à l'aide du package APIS (Griot *et al.*, 2020) afin de contrôler le taux d'individus correctement assignés à l'aide du panel de marqueurs.

1.3. Définition du plan d'accouplement (algorithme de gestion de la diversité génétique)

Le génotype de chaque individu a été exprimé sous forme de fréquence allélique (0 ; 0,5 ; 1) afin de calculer une matrice de distance euclidienne entre individus deux à deux. A partir des N=54 individus initiaux, un algorithme dit de « recuit-simulé » a été développé afin de sélectionner 40 individus (n_m =10 mâles et n_f=30 femelles) permettant de maximiser la distance génétique moyenne entre individus. Cet algorithme de « recuit-simulé » est une simplification de l'algorithme présenté dans Chapuis et al. (2015).
A l'état initial n_m mâles et n_f femelles sont sélectionnés aléatoirement. La distance moyenne d_0 entre l'ensemble de ces animaux est calculée. A la première itération de l'algorithme, soit un mâle, soit une femelle est remplacé par un individu de même sexe ne figurant pas dans la combinaison initiale. Une nouvelle distance moyenne d_1 est calculée. Si $d_1>d_0$, alors la nouvelle combinaison d'individus est acceptée comme nouvelle combinaison de référence d_{ref}, si $d_1<d_0$, alors la nouvelle combinaison est acceptée avec la probabilité :

$$p = e^{-(d_1-d_0)/t_0}$$

Où t_0 est appelé « température » initiale du système, définie comme l'écart type de la distribution construite à partir de la distance moyenne pour chacune de 10000 combinaisons aléatoires de 40 animaux.
A chaque itération, la même logique est appliquée. Ainsi, à l'itération i, la nouvelle combinaison est acceptée si $d_i>d_{ref}$. Si $d_i<d_{ref}$, la nouvelle combinaison est acceptée avec la probabilité :

$$p = e^{-(d_i-d_{ref})/t_j}$$

Où t_j est la $j^{ème}$ « température » du système défini comme :

$$t_j = t_0 \times 0.99^j$$

A chaque « température », le nombre d'itérations de l'algorithme avant de passer à la « température » suivante est fixé arbitrairement à k=21N (soit au-dessus de la recommandation k=5N de Chapuis *et al.* 2015)). L'algorithme s'arrête lorsqu'aucune nouvelle combinaison est acceptée après 100 « températures » successives. La combinaison en cours est alors considérée comme étant la combinaison optimale.
Après avoir ainsi sélectionné la combinaison de 40 individus permettant de maximiser la distance génétique moyenne entre individus, la structure de parquets doit être définie. Cette structure de parquet est définie en deux étapes successives :

- Premièrement, il est nécessaire de maximiser la distance minimale entre deux femelles d'un même parquet (et ainsi de limiter l'apparentement entre les individus de la prochaine génération). L'algorithme a donc été légèrement adapté en ce but. La valeur de t_0 étant cette fois-ci l'écart type de la distribution construite à partir de la distance minimale entre deux femelles d'un même parquet pour chacune de 10000 combinaisons aléatoires de 10 parquets de 3 femelles.

- Deuxièmement, il est nécessaire de maximiser la distance moyenne entre mâles et femelles à accoupler. La structure de parquets définie lors de la première étape sert alors de point de départ pour une nouvelle adaptation de l'algorithme. A chaque itération, soit le mâle d'un parquet est permuté avec le mâle d'un autre parquet, soit une femelle d'un parquet est permutée avec une femelle d'un autre parquet. Lors d'une itération, la nouvelle combinaison est systématiquement rejetée si la distance minimale entre deux femelles d'un même parquet est inférieure à un seuil donné (s). La procédure de recuit-simulé ne s'applique que sur la distance moyenne entre mâles et

femelles à accoupler. La valeur du seuil permettant de garantir une distance minimale satisfaisante entre femelles d'un même parquet tout en garantissant la plus large distance moyenne possible entre mâles et femelles d'un parquet a été estimée à s=3,86 (analyse non montrée ici).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Diversité génétique

Bien que la Noire de Challans ne fasse pas partie du panel de races étudiées dans le cadre du projet RefGenDivA, le niveau de polymorphisme des marqueurs utilisés est compatible avec leur utilisation pour décrire la diversité génétique de la race (MAF moyenne de 0,358, sd=0,096). Néanmoins, le passage sur la technologie KASPar des marqueurs identifiés en technologie Illumina a occasionné la perte d'un nombre important de marqueurs (26).
Le F_{IS} multilocus est légèrement positif (0,069, Figure 1A) et significativement différent de 0 ($p<0,05$ après 1000 bootstraps) indiquant un léger déficit en hétérozygotes. L'ACP indique que cinq individus ségrégent hors de la population générale (Figure 1B). Ces animaux sont tous issus d'un même élevage ayant évolué en vase-clos depuis plus de 25 ans (H. Deloison, comm. pers.). La valeur du F_{IS} après avoir exclu ces cinq individus de l'analyse ne diffèrent pas significativement de 0 ($p>0.05$ après 1000 bootstraps). L'excès en homozygotes observé dans la population est donc plus probablement le produit d'un effet Wahlund (i.e. fragmentation de la population en sous-groupes) plutôt que le produit d'accouplements entre apparentés (i.e. consanguinité). Nos résultats confirment les observation d'une étude précédente qui avait déjà montré un effet important de l'élevage d'origine sur la structure génétique de la race Noire de Challans (Berthouly *et al.*, 2008). Cette structure génétique suggère donc un volume d'échanges de reproducteurs assez faible entre populations isolées de Noire de Challans.

2.2. Utilisation en assignation de parenté

La probabilité d'identité calculée sur la base des 70 marqueurs analysés est de $4,24x10^{-27}$. La probabilité d'exclusion quant à elle se situe à 0,999. Le potentiel de ce jeu de marqueurs dans un cadre d'assignation de parenté est confirmé par l'analyse *in silico* où la totalité des 1000 génotypes de descendants simulés ont été correctement assignés à leurs parents réels. Ces performances obtenues avec 70 marqueurs sont amenées à être améliorées lorsque d'autres marqueurs viendront compléter ce panel pour obtenir 96 marqueurs fonctionnels. Il est important de noter néanmoins que l'absence de reproduction avec pedigree connu dans la race empêche l'estimation du nombre d'incompatibilités mendeliennes (i.e. génotypes parent/descendants incompatibles).

2.3. Définition du plan de croisement optimal

Pour référence, la distance génétique moyenne entre les 54 individus génotypés est de 3,99. A titre indicatif, la distance génétique moyenne attendue entre deux pleins frères/sœurs dans cette population est de 2.68 (valeur obtenue après simulations, script R disponible sur demande). L'algorithme de recuit simulé a permis de sélectionner les 10 mâles et les 30 femelles permettant de maximiser la distance génétique moyenne existante entre eux. La combinaison optimale indique une distance génétique moyenne de 4,13, niveau significativement supérieur à celui attendu si la sélection de 40 animaux avait été effectuée au hasard ($p<0.001$ après 10000 permutations, Figure 2A).
La définition des parquets a débuté par la répartition des 30 femelles en 10 parquets en maximisant la distance minimale entre deux femelles d'un même parquet. L'algorithme de recuit-simulé a permis de définir une structure aboutissant à une distance minimale entre deux femelles d'un même parquet de 4,06, valeur significativement supérieure à la distance minimale attendue si la répartition des femelles avait été effectuée au hasard ($p<0.001$ après 10000 permutations, Figure 2B).
Cette structure a donc servi de point de départ afin d'assigner chaque mâle sélectionné à un parquet en maximisant la distance entre mâles et femelles accouplés. L'algorithme de recuit-simulé permettant d'assigner les mâles aux différents parquets a abouti à une distance moyenne entre mâles et femelles de 4,44, significativement supérieur à la distance attendue si le plan de croisement avait été dressé au hasard ($p<0.001$ après 10000 permutations, Figure 2C). Cette structure de parquet est donc considérée comme optimale du point de vue de la gestion génétique du cheptel de Noire de Challans.

CONCLUSION

Par contraintes biologique et opérationnelle, le suivi du pedigree des animaux d'une race de poule menacée d'abandon est souvent impossible (traçabilité mère-œuf impossible, impossibilité de suivre les accouplements, compétition spermatique entre les mâles…). Les liens de parenté existant entre animaux doivent donc être inférés par d'autres moyens que la seule observation. L'intégration par le SYSAAF d'outils récents de biologie moléculaire dans une procédure de gestion d'accouplements permet de répondre à cette difficulté. Le présent travail pose en effet les concepts d'une gestion *in situ* de la diversité génétique de la race Noire de Challans. Les efforts de gestion de cette race devraient se poursuivre grâce à son inclusion dans le projet européen GEroNIMO à l'intérieur duquel il est prévu de poursuivre le suivi

sur cinq générations. Ce suivi permettra notamment de confirmer sur des données réelles l'utilisation du jeu de marqueurs dans un cadre d'assignation de parenté. La construction progressive d'un pedigree pour la race permettra également de passer à une stratégie de gestion basée sur le pedigree telle qu'elle est déployée de façon classique pour des lignées à vocation commerciale. La désignation concrète d'une population de base susceptible d'alimenter des éleveurs amateurs et professionnels (i.e. avec des individus rigoureusement identifiés) est aussi un nouveau pas en faveur de la pérennité de cette micro-filière. Enfin, le SYSAAF entend tirer avantage de la portabilité du jeu de marqueurs utilisé ici afin d'étendre le concept de gestion *in situ* à d'autres petites races menacées d'abandon.

REMERCIEMENTS

Les auteurs de l'étude remercient les éleveurs de l'association pour la sauvegarde et la valorisation de la poule Noire de Challans pour la mise à disposition de leurs animaux, la plateforme Gentyane pour la prestation de génotypage, le Conseil régional des Pays de la Loire et Conseil départemental de la Loire-Atlantique pour le financement de ces travaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Audiot A., Bertrand C., Chapuis H., Charvolin-Lemaire E., Danchin-Burge C., Danvy S., Gourdine J.-L., Gaultier P., Guemene D., Laloë D., Lenoir H., Leroy G., Naves M., Patin S., Sabbagh M., Verrier E., 2015. Rapport pour le Ministère chargé de l'Agriculture. 4 p.

Berthouly C., Bed'hom B., Tixier-Boichard M., Chen C.F., Lee Y.P., Laloë D., Legros H., Verrier E., Rognon X., 2008. Anim. Genet., (39), 121-129

Chapuis H., Pincent C., Colleau J.J., 2015. J. Anim. Breed. Genet., (133), 3-12

Goudet, J., 2005. Mol. Ecol. Notes, (5), 184-186

Griot R., Allal F., Brard-Fudulea S., Morvezen R., Haffray P., Phocas F., Vandeputte M., 2020. Mol. Ecol. Resour. (20) 579-590

Jamieson A., Taylor S.C.S., 1997. Anim. Genet., (28), 397-400

Restoux G., Rognon X., Vieaud A., Guémené D., Petitjean F., Rouger R., Brard-Fudulea S., Lubac-Paye S., Chiron G., Tixier-Boichard M., soumis à Genet. Sel. Evol.

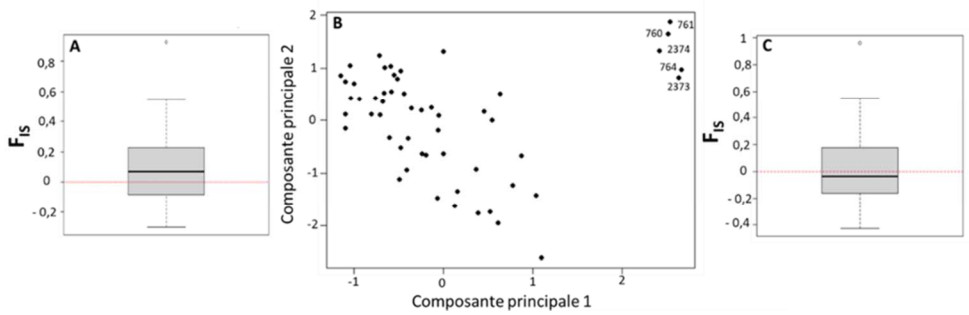


Figure 1. Diversité génétique de la population de Noire de Challans étudiée. A : Distribution du F_{IS} en utilisant l'ensemble des individus de la population (n=54). B : Distribution des génotypes le long des deux premiers axes de l'ACP (la part de la variance expliquée par les composantes principales 1 et 2 est de 15,7% et 9,3% respectivement). C : Distribution du F_{IS} en retirant les cinq individus « outliers » mis en évidence dans l'ACP.

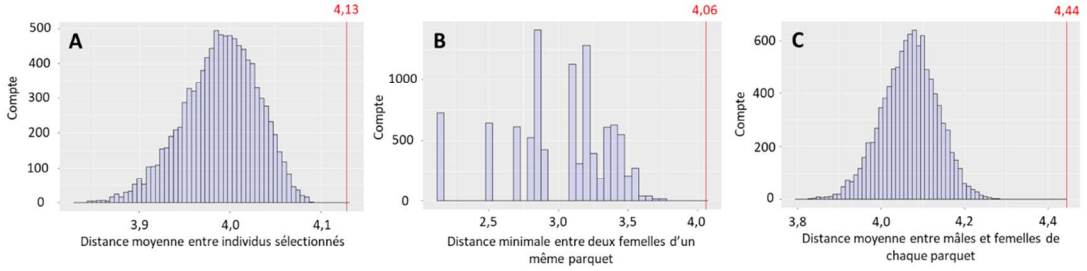


Figure 2. **Performances des trois déclinaisons de l'algorithme de recuit-simulé utilisé dans l'étude.** La ligne verticale rouge sur chacun des histogrammes correspond à la combinaison identifiée optimale par l'algorithme. A : Distribution de la distance moyenne entre 40 individus lorsque les individus sont sélectionnés aléatoirement (10000 tirages). B : Distribution de la distance minimale entre deux femelles d'un même parquet lorsque les parquets sont construits aléatoirement (10000 tirages). C : Distribution de la distance moyenne entre mâles et femelles d'un même parquet quand les parquets de 1 mâle pour 3 femelles sont construits de façon aléatoire à partir de la population candidate (10000 tirages).

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Communications orales

DIMINUTION SIGNIFICATIVE DE LA RESISTANCE AUX CEPHALOSPORINES CHEZ LES *E. COLI* DE POULET ET VIANDE DE POULET EN FRANCE

Perrin-Guyomard Agnès[1], Kempf Isabelle[2], Bruneau Mireille[1], Anger Béatrice[1], Houée Paméla[1], Legrandois Patricia[1], Valentin Charlotte[1], Chauvin Claire[2], Gaugain Murielle[1], Adam Cécile[3], Le Fouillé Sandra[3], Granier Sophie[1]

[1]ANSES - LABORATOIRE DE FOUGERES - 10B rue Claude Bourgelat, CS 40608 - 35306 FOUGERES
[2]ANSES – LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN-PLOUZANE-NIORT - BP53 - 22440 PLOUFRAGAN
[3]DGAL – 251 rue de Vaugirard – 75732 PARIS
agnes.perrin-guyomard@anses.fr

RÉSUMÉ

La surveillance spécifique de la résistance des *Escherichia coli* (*E. coli*) aux céphalosporines de troisième génération (C3G) ou aux carbapénèmes, isolés de poulets de chair et de leur viande en France, montre qu'entre 2014 et 2020, aucune souche de *E. coli* résistante aux carbapénèmes n'a été isolée des prélèvements effectués en abattoir ou à la distribution. La proportion de *E. coli* résistants aux C3G dans les caeca de poulet a diminué significativement de 4,4 % à 0,5 % entre 2014 et 2020. Dans le même temps, la prévalence des *E. coli* résistants aux C3G isolés de manière sélective a chuté de 44,0 % à 9,6 % dans les caeca de poulet ($p<0,01$) et de 62,9 % à 11,1 % dans la viande de poulet ($p<0,01$). La diminution de l'occurrence et de la prévalence des *E. coli* résistants aux C3G chez le poulet sur la période 2014-2020 montre que les mesures législatives ou réglementaires et l'engagement des professionnels de la filière ont eu un impact bénéfique sur la résistance aux céphalosporines en filière volaille en France.

ABSTRACT

Significant decrease of *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins in broilers and derived meat in France.

In the framework of extended-spectrum cephalosporin- or carbapenem-resistant *Escherichia coli* (*E. coli*) surveillance in broilers and derived meat in France, no carbapenem-resistant isolate was detected between 2014 and 2020 at slaughterhouses and at retail. The proportion of *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins in cecal samples from broilers decreased significantly from 4.4% to 0.5% between 2014 and 2020. In the same time, the prevalence of samples containing *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins detected on selective media dropped from 44.0% to 9.6% in cecal samples of broilers ($p<0.01$) and from 62.9% to 11.1% in derived meat ($p<0.01$). The decrease of occurrence and prevalence of *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins in broilers between 2014 and 2020 indicates that legislative or regulatory measures and the commitment of professionals have had a beneficial impact on resistance to cephalosporins in the poultry industry in France.

INTRODUCTION

Les céphalosporines de troisième génération (C3G) et les carbapénèmes sont des antibiotiques d'importance critique pour la santé humaine. La proportion d'*Escherichia coli* au sein des Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées d'infections en milieu hospitalier a augmenté de 19 à 54 % entre 2002 et 2017 en France (Santé Publique France, 2019)[1]. La présence de *E. coli* résistants aux C3G en élevage suggère que les animaux et les denrées d'origine animale pourraient être un réservoir de *E. coli* résistants aux C3G pour l'homme. C'est pourquoi une surveillance renforcée de ces bactéries dans les denrées et chez les animaux a été légiférée en Europe à partir de 2014 (décision 2013/652/UE)[2]. Parallèlement en France, les plans EcoAntibio 1 et 2[3] visaient entre autres à renforcer le suivi de l'antibiorésistance dans le domaine vétérinaire et à réduire de 50 %, en 5 ans (2017-2021), la prévalence des *E. coli* résistants aux C3G dans les prélèvements de poulets à la distribution. Cet article présente l'évolution des *E. coli* résistants aux C3G isolés de poulets de chair et de leur viande en France entre 2014 et 2020.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Plan d'échantillonnage

Tous les deux ans, la Direction Générale de l'Alimentation (DGAl) déploie un plan de surveillance de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries sentinelles et zoonotiques sur des prélèvements de caeca de poulets de chair en abattoir et sur des viandes fraîches de volailles au stade de la distribution. La stratégie d'échantillonnage de ce plan est élaborée en application de la décision 2013/652/UE[2]. Les prélèvements de caeca de poulet de chair et de viandes fraîches de poulet ont été réalisés par les services vétérinaires les années paires, 1) à l'abattoir selon une clef de répartition proportionnelle au volume annuel abattu par abattoir, et 2) à la distribution dans les rayons libre-service réfrigérés des grandes et moyennes surfaces représentant 95 % des achats de viandes en France, à partir de 2016. Pour chaque lot d'abattoir sélectionné, les caeca d'un seul poulet pris au hasard étaient prélevés. Le plan d'échantillonnage a été dimensionné pour atteindre un minimum de 300 prélèvements d'échantillons caecaux pour chaque type de volaille et 300 prélèvements de viande de poulet, par année de surveillance.

1.2. Isolement des souches (Figure 1)

Sur environ 2/3 des prélèvements de caeca, les laboratoires agréés du réseau antibiorésistance ont effectué un isolement direct sur gélose MacConkey pour isoler des *E. coli*. Pour chaque lot prélevé, un seul isolat de *E. coli*, pris au hasard sur milieu sans antibiotique (population colibacillaire dominante), était conservé pour analyse. De plus, à partir de l'ensemble des prélèvements de caeca, une recherche de *E. coli* présumés résistants aux C3G par production de BLSE, AmpC ou carbapénèmase a été effectuée selon le protocole Anses/LMV/15/03[4]. De même, à partir de l'ensemble des prélèvements de viande, une recherche de *E. coli* présumés résistants aux C3G par production de BLSE, AmpC ou carbapénèmase a été effectuée selon le protocole Anses/LMV/18/01[5].
Brièvement, pour la recherche de *E. coli* présumés résistants aux C3G les échantillons de caeca et de viande ont été enrichis de manière non sélective dans une eau peptonée tamponnée (EPT) pendant une nuit à 37°C. La culture pré-enrichie a ensuite été étalée et incubée sur un milieu gélosé permettant l'isolement sélectif des *E. coli* producteurs présumés de BLSE et/ou AmpC (gélose MacConkey supplémentée à 1mg/L en céfotaxime (C3G)) et sur deux milieux gélosés permettant l'isolement sélectif des *E. coli* producteurs d'une part d'oxacillinase (ChromID OXA®, Biomérieux, France) et d'autre part de carbapénèmase (ChromID CARBA®, Biomérieux, France).
L'identification des isolats a été effectuée par méthodes biochimiques et/ou spectrométrie de masse de type MALDI-TOF.

1.3. Sensibilité aux antibiotiques

Le Laboratoire National de Référence Résistance antimicrobienne a déterminé la sensibilité aux antibiotiques des isolats identifiés *E. coli*, par micro-dilution en milieu liquide (Sensititre®, ThermoScientific, France) vis-à-vis de quatorze antibiotiques issus de neuf familles différentes (microplaques EUVSEC), en application de la décision 2013/652/UE[2]. De plus, les souches présentant des résistances aux céphalosporines et/ou aux carbapénèmes ont été testées sur un deuxième panel d'antibiotiques (microplaques EUVSEC2), afin de confirmer et d'orienter la détermination du mécanisme de résistance enzymatique aux céphalosporines ou aux carbapénèmes. Le classement des souches dans les catégories sauvages (souches

1 https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques/documents/enquetes-etudes/surveillance-des-bacteries-multiresistantes-dans-les-etablissements-de-sante-reseau-bmr-raisin-france-resultats-2017

2 https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013D0652

3 https://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-2012-2017-lutte-contre-lantibioresistance; https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2022

4 https://www.anses.fr/ANSES_LMV_15_03

5 https://www.anses.fr/ANSES_LMV_18_01

sensibles) ou non-sauvages (souches résistantes) a été effectué par comparaison des valeurs individuelles de concentration minimale inhibitrice (CMI) d'antibiotiques aux seuils épidémiologiques de l'EUCAST[6]. La proportion de souches résistantes par rapport au nombre total de souches testées a été calculée pour chacun des antibiotiques testés.

1.4. Analyses statistiques

L'évolution de la proportion de souches résistantes et l'évolution de la prévalence des *E. coli* BLSE/AmpC ont été évaluées par un test de Cochran-Armitage.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Entre 2014 et 2020, aucune des 858 souches de *E. coli* isolées par ensemencement direct sur milieu sans antibiotique, à partir des prélèvements de caeca de poulet à l'abattoir, n'était résistante aux carbapénèmes à l'issue des déterminations de CMI. Entre 2016 et 2020, aucun des 943 prélèvements de caeca effectués en abattoir et des 970 prélèvements de viandes effectués à la distribution ne contenait de *E. coli* producteur de carbapénèmases à l'issue des isolements sur milieux sélectifs. De plus, le taux de *E. coli* isolés par ensemencement direct à partir des caeca de poulet et résistants aux C3G, a diminué significativement de 4,4 % en 2014 à 0,5 % en 2020 ($p<0.01$) (Figure 2). Entre 2016 et 2020, la recherche sélective des *E. coli* BLSE/AmpC dans les caeca et dans les viandes de poulet montre que la prévalence de ces souches a chuté de 44,0 % à 9,6 % à l'abattoir ($p<0,01$) et de 62,9 % à 11,1 % à la distribution ($p<0,01$) (Figure 3). Sur la base des valeurs de CMI de céphalosporines (microplaque EUVSEC2) et de la synergie (phénotype BLSE) ou pas avec l'acide clavulanique (phénotype AmpC), les souches isolées de caeca [ou de viande sont majoritairement présumées porteuses d'une résistance enzymatique de type BLSE. Pour un grand nombre de ces souches, la résistance aux β-lactamines est associée aux résistances à la tétracycline, au sulfaméthoxazole, au triméthoprime et aux quinolones (Tableau 1).

Bien que les céphalosporines ne soient pas autorisées en filière volaille, ces résultats montrent que des souches de *E. coli* résistantes aux C3G étaient présentes dans presque la moitié des prélèvements de caeca de poulet de chair en France en 2016. Toutefois, ces souches résistantes ne représentent qu'une faible sous-population de la population colibacillaire totale puisqu'elles ne sont que rarement détectées lors d'isolements sur milieux sans antibiotique. Dans certains pays comme la Suède ou le Danemark, comme le suggèrent Agersø et *al* et Nilsson et *al*, ces souches résistantes ou les plasmides issus de ces souches pourraient avoir été introduits du fait de l'importation de poulets reproducteurs et avoir été disséminés à travers la pyramide de production des poulets de chair, même en l'absence de pression de sélection (Agersø et *al*., 2014; Nilsson et *al*., 2014). En France par le passé, les céphalosporines ont pu être utilisées en couvoir par injection de ceftiofur *in ovo* ou en sous-cutanée chez le poussin d'un jour, pour contrôler les fortes mortalités dues aux infections à *E. coli* chez le poulet en élevage. Ces pratiques ont pu favoriser également la sélection et la dissémination des souches de *E. coli* résistantes aux C3G chez les poulets (Baron et al., 2014). De plus, ces souches étant souvent porteuses de résistances associées à des antibiotiques utilisés en élevage comme la tétracycline et les sulfamides, certains traitements antibiotiques ont pu les co-sélectionner et favoriser leur maintien dans l'environnement d'élevage. La réduction drastique d'usage des céphalosporines dans d'autres filières a montré une corrélation avec la diminution de la résistance bactérienne (Verliat et *al*, 2021). D'autre part, la diminution constante de l'exposition globale aux antibiotiques des volailles depuis 2011 en France (- 64,4 %) (ANMV, 2021) a aussi pu participer à la diminution d'occurrence des *E. coli* résistants aux C3G chez les poulets en élevage (- 78,2 %) sur la période 2016-2020. Ce portage en élevage, participant probablement à la prévalence observée dans les viandes à la distribution (Projahn et al., 2018), a sans doute eu une incidence positive sur la diminution simultanée de 82,5 % des *E. coli* BLSE/AmpC isolés dans les viandes de poulet en France entre 2016 et 2020, comme cela a également été observé au Royaume Uni entre 2013 et 2018 (Randall et *al*, 2021). Cette diminution très significative dépasse l'objectif chiffré de l'action 14 du plan Ecoantibio (2017-2021), qui prévoyait d'atteindre une « réduction spécifique de 50 % en 5 ans de la prévalence d'*E. coli* producteurs de BLSE sur les prélèvements de volailles (poulets de chair) au stade de la distribution ». Dans la surveillance européenne, l'évolution de la prévalence des *E. coli* BLSE/AmpC varie positivement ou négativement selon les états membres. Mais globalement, une diminution moyenne de cette prévalence, de 8 % dans les caeca et de 31 % dans les viandes, a été enregistrée entre 2016 et 2018 dans l'Union Européenne (European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention control (ECDC), 2020).

CONCLUSION

La diminution très significative de la résistance aux C3G chez les *E. coli* de poulet sur la période 2014-2020 montre que les mesures législatives ou réglementaires et l'engagement des professionnels de la filière ont eu un impact bénéfique marqué sur la résistance aux C3G en filière volaille en France.

6 https://mic.eucast.org/

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agersø, Y. et *al*., 2014. Foodborne Pathog Dis., (11), 740-746.
Anses. 2021. Rapport annuel. Anses-ANMV, 89 p.
Baron, S. et *al*., 2014. Antimicrob. Agents Chemother., (58), 5428-5434.
European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention control (ECDC), 2020. EFSA Journal, (18), 1-166.
Nilsson, O. et *al*., 2014. J. Antimicrob. Chemother., (69), 1497-1500.
Projahn, M. et *al*., 2018. Biomed Res. Int., 7309346.
Randall LP. et *al*., 2021. J. Appl. Microbiol ., (130), 247-257.
Verliat F. et *al*., 2021. Vet. Med. Sci., (7), 432-439.

Tableau 1. Profils de résistances associées les plus fréquents et fréquence d'apparition de ces profils chez les *E. coli* BLSE/AmpC isolés de caeca de poulet et de viandes de poulet entre 2016 et 2020.

	Caeca		Viandes	
Années	**Profils les + fréquents**	**Fréquence d'apparition**	**Profils majoritaires**	**Fréquence d'apparition**
2016	SMX-TET	20 %	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	12 %
2018	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	39 %	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	40 %
2020	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	30 %	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	11 %

CIP/NAL : ciprofloxacine/acide nalidixique – SMX : sulfaméthoxazole – TET : tétracycline – TMP : triméthoprime.

Figure 1. Protocole d'isolement des souches.

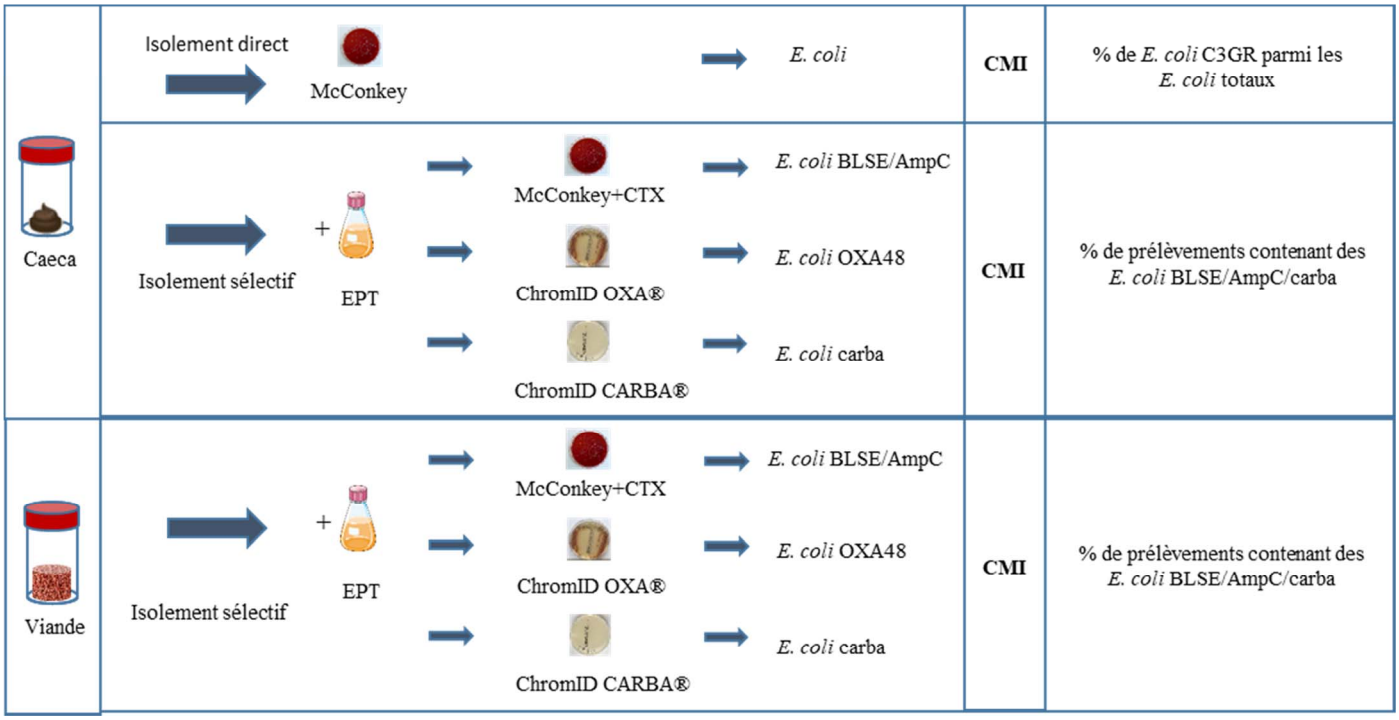


Figure 2. Evolution des pourcentages de *E. coli* résistants aux C3G dans la population totale de *E. coli* isolés par méthode directe à partir des caeca de poulets de chair prélevés à l'abattoir entre 2014 et 2020.

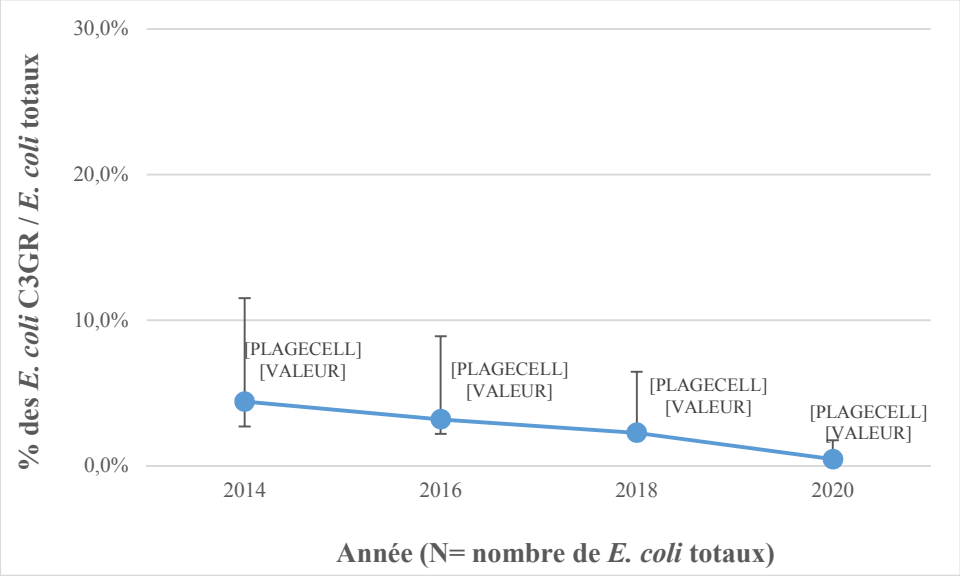
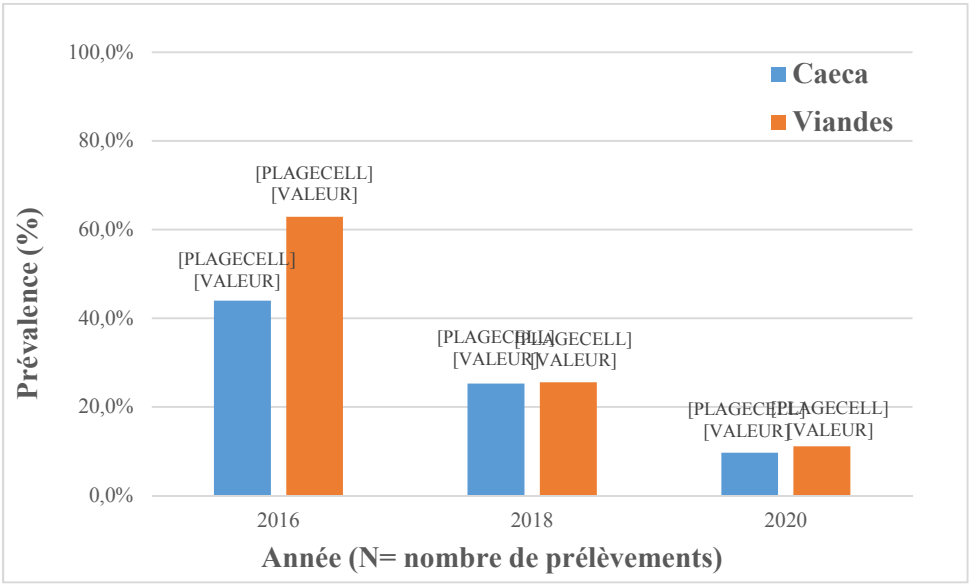


Figure 3. Evolution des pourcentages de prélèvements de caeca de poulet à l'abattoir et de viandes de poulet à la distribution entre 2016 et 2020 contenant des *E. coli* BLSE/AmpC isolés sur milieux sélectifs.



ETUDE DE LA SENSIBILITE DES ENTEROCOQUES ET DES COLIBACILLES EN VOLAILLE SUR 5 HUILES ESSENTIELLES AVEC L'AROMATOGRAMME.

Mauvisseau Thierry [1], Martineau Martine [1], Sourisseau Louis[1]

[1]RESEAU CRISTAL-LABOVET CONSEIL-28 rue des Sables, 85140 LES ESSARTS, France
t.mauvisseau@reseaucristal.fr

RÉSUMÉ
Le recours aux huiles essentielles (HE) est une alternative aux antibiotiques en élevages. Cette thérapeutique répond aux attentes du Plan Eco antibio 2012 et a été soutenue avec la demande de recherche dans ce domaine avec le plan Eco Antibio II. La production de volaille sans antibiotique se développe fortement et le recours aux HE est de plus en plus fréquent dans un but thérapeutique. Malheureusement, peu d'études existent sur la réelle pertinence des plantes utilisées. L'objet de notre travail a été de retenir 5 HE (cannelle de Ceylan, girofle, niaouli, origan compact, thym à feuille de sarriette et thym à thymol), réputées actives sur les bactéries, que nous avons testées par la méthode de l'aromatogramme en milieu gélosé. Nous avons sélectionné 20 souches de colibacilles et 14 souches d'entérocoques, isolées sur animaux malades en élevages. Nous avons comparé les diamètres d'inhibition, ce qui a permis de quantifier le pouvoir antibactérien de ces 5 HE, avec une bonne sensibilité pour la cannelle, l'origan et le thym à thymol, avec une sensibilité plus importante pour les colibacilles que pour les entérocoques, avec cependant des différentes significatives entre les différentes souches. Le niaouli n'a pas d'activité antibactérienne et le girofle et le thym à sarriette une activité assez faible La différence de sensibilité constatée sur certaines souches peut expliquer les moins bonnes réponses thérapeutiques parfois observées.

ABSTRACT
Study of the sensitivity of enterococci and colibacilli in poultry on 5 essential oils with the aromatogram.
The use of essential oils (EOs) is an alternative to antibiotics in farms. This therapy meets the expectations of the Eco Antibio Plan 2012 and has been supported by the demand for research in this area with the Eco Antibio II plan. The production of poultry without antibiotics is developing strongly and the use of EO is more and more frequent for therapeutic purposes. Unfortunately, few studies exist on the real relevance of the plants used. The object of our work was to retain 5 EOs (Ceylon cinnamon, Cloves, Niaouli, Compact oregano, Savory leaf thyme and Thymol thyme), deemed to be active on bacteria, which we tested by the method of aromatogram in agar medium. We have selected 20 strains of colibacilli and 14 strains of enterococci, isolated from sick animals in farms. We compared the diameters of inhibition which made it possible to quantify the antibacterial power of these 5 EOs, with good sensitivity for cinnamon, oregano and thymol thyme with greater sensitivity for colibacilli than for enterococci, however with significant differences between the different strains. Niaouli has no antibacterial activity and Clove and Savory thyme a fairly low activity. The difference in sensitivity observed on certain strains may explain the poorer therapeutic responses sometimes observed.

INTRODUCTION

L'application du plan Eco Antibio I en 2012-2016 a permis de réduire de plus de 25 % le recours aux antibiotiques en production animale. La finalité était de limiter l'apparition de bactéries multirésistantes qui pouvait diminuer l'efficacité des antibiotiques en médecine humaine (ANSES, 2014) Dans le domaine de la volaille, les antibiotiques sont majoritairement utilisés sur la colibacillose avec des formes respiratoires rapidement septicémiques, et sur des pathologies articulaires générées par des entérocoques. Diverses solutions alternatives aux antibiotiques ont été étudiées telles que les huiles essentielles (HE). Ces substances issues des plantes aromatiques par distillation, renferment des molécules à fort pouvoir antibactérien pour certaines, pouvant être utilisées en remplacement des antibiotiques en élevage. Ces solutions sont de plus en plus administrées devant le développement croissant de productions animales élevées avec des cahiers des charges sans antibiotiques. En médecine humaine, le nombre de publications relatives à l'utilisation des HE est croissant (Melo et al., 2015) et divers germes bactériens ont pu être testés permettant d'établir un panel d'HE potentiellement utilisables dans un but thérapeutique. Ces études ont permis à des médecins aromathérapeutes formés de traiter des affections bactériennes au quotidien sans antibiotiques, et parfois des affections multirésistantes. (Franchomme et al., 2001) En médecine vétérinaire, le nombre de publications est assez peu conséquent. Le Plan Eco Antibio II (2017) incite à développer la recherche sur l'aromathérapie vétérinaire. L'objectif de cette étude a été d'étudier 5 HE souvent utilisées en élevage pour leurs propriétés reconnues comme antibactériennes (cannelle de Chine, clou de girofle, niaouli, origan, thym à sarriette et thym à thymol) (Dahigaonkar et al., 2018) (Fournomiti et al., 2015) (Oussalah et al., 2006). Ces HE ont été testées sur 20 colibacilles et 14 entérocoques. Nous avons travaillé avec des HE chémotypées, dont le profil chimique est bien connu et avons privilégié celles à base de composants antibactériens majeurs, tels que les phénols et des aldéhydes aromatiques. Afin de pouvoir valider cette efficacité antibactérienne, nous avons eu recours à une technique de laboratoire : l'aromatogramme en milieu gélosé, qui permet de mesurer le diamètre d'inhibition généré par l'huile essentielle sur la souche bactérienne retenue. Nous avons voulu comparer 2 familles de bactéries : les colibacilles et les entérocoques, afin de vérifier si les diamètres d'inhibition diffèrent d'une bactérie à l'autre. Ensuite, nous avons comparé les résultats des 20 colibacilles entre eux afin de vérifier s'il y avait des différences de sensibilités suivant les souches de colibacilles isolés. Le même travail a été réalisé sur les 14 entérocoques.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Les souches

Nous avons sélectionné des colibacilles isolés sur affection clinique avec mortalité en élevage de volaille (poulet, poule et dinde). Ces souches sont conservées en gélose longue conservation à température ambiante. Nous avons retenu 5 colibacilles O78K80 et 3 *E. coli* O2K1, sérotypes réputés pathogènes pour la volaille et 12 colibacilles dits non sérotypés n'appartenant pas aux sérotypes O78K80, O2K1 et O1K1. (Mansouri et al., 2018) Ces colibacilles étaient responsables de mortalité anormale en élevage, nécessitant un traitement avec un antibiotique ou avec des mélanges d'huiles essentielles Nous avons également retenu des entérocoques qui sont responsables de troubles locomoteurs surtout en poulet à forte croissance, nécessitant un traitement à l'amoxicilline, antibiotique à spectre gram positif. Les isolements ont été réalisés sur des lésions articulaires (arthrite, spondylosysthèse ou ostéomyélite) ou au niveau de la moelle osseuse. 9 *E. cecorum* et 5 *E. hirae* ont été retenus dans notre étude à partir de notre souchothèque.

1.2. Les HE

Nous avons sélectionné des HE chémotypées dont le composant aromatique majeur ou différentiant vis-à-vis de la même plante était connu (Faucon, 2015). Pour ce faire nous avons eu recours à des HE de qualité pharmaceutique (Matière Première à Usage Pharmaceutique : MPUP). Une HE est composée de plusieurs substances aromatiques qu'il est possible de déterminer et de quantifier à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse. Toutes ces substances n'ont pas des propriétés antibactériennes (Ex des esters, les coumarines), nous avons donc ciblé principalement des HE réputées contenir des substances agissant sur les bactéries. Les phénols avec le thymol (HE de thym, chémotypée thymol : K), le carvacrol (origan compact : H et thym à feuille de sarriette : J) et l'eugénol (HE de clou de girofle : D). Les aldéhydes aromatiques avec le cinnamaldéhyde (cannelle de Ceylan : B) et enfin des oxydes moins antibactériens mais de très bons antiviraux et expectorants avec le 1-8 cinéol retrouvé dans l'HE de niaouli.

1.3. La méthode

Nous avons utilisé la technique de l'aromatogramme en milieu gélosé. (Calvo et al., 2006) pour identifier d'éventuels diamètres d'inhibition générés par l'HE. Un inoculum a été préparé à partir de chaque bactérie dans une solution d'eau physiologique, permettant d'obtenir une suspension à 0,5 Mac Farland. La

suspension est diluée pour obtenir une concentration souhaitée à 10^7 UFC/ml pour les colibacilles et 10^8 pour les entérocoques. L'ensemencement est réalisé par écouvillonage à partir de l'inoculum attendu sur une gélose de Mueller Hinton. L'HE est déposée sur un buvard en papier Wattman de 6 mm de diamètre selon 2 volumes : 3 et 5 µl et un buvard avec de l'eau déminéralisée faisant office de témoin négatif. Les boites sont ensuite mises à l'incubation à 37°C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne se manifeste par un halo plus ou moins large autour du buvard qui a été mesuré à l'aide de pied à coulisse. Chaque essai est réalisé en duplicate, la moyenne des 2 mesures est calculée. Dans la mesure où les lectures n'ont pas été réalisées à l'aide d'un lecteur optique, de légers écarts de l'ordre du millimètre peuvent être observés avec le pied à coulisse. Entre 6 et 10 mm de diamètre, la sensibilité est qualifiée de « assez faible » ; de 10- 20 mm de diamètre, la sensibilité est dite « significative» et au-delà de 20 mm de diamètre la sensibilité est dite « élevée ». Dans la mesure où le diamètre du buvard est de 6 mm, il ne peut y avoir de diamètre inférieur. Tout diamètre égal à 6 mm indique qu'il n'y a pas de halo autour du disque et donc, par conséquent, que l'HE n'a pas généré d'inhibition de la souche bactérienne. Il y a donc résistance.

1.4. Analyse statistique

Les diamètres d'inhibition moyens sont ensuite comparés pour chaque germe et pour chaque HE, à l'aide du test statistique non paramètrique de Wilcoxon-Mann-Whitney et le logiciel BioStaTGV en ligne, afin de déterminer si les diamètres sont statistiquement différents entre les colibacilles et les entérocoques.

Une représentation graphique avec des boites à moustache permet de déterminer la répartition des mesures pour chaque genre bactérien et ainsi de répondre à la question de savoir si certaines souches sont plus sensibles que d'autres vis-à-vis d'une HE, comme cela a été depuis longtemps constaté avec les antibiotiques.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Résultat

Les diamètres d'inhibition mesurés sur les colibacilles sont plus élevés à 3 et 5 µl que ceux des entérocoques. (Tableaux 1). Les mesures s'étalent de 6 à 40 mm. Trois HE semblent particulières actives sur les 2 bactéries à savoir les HE B, H et K. avec des diamètres d'inhibition supérieurs à 20 mm. Les diamètres observés sont toujours plus faibles à 3 µl qu'à 5 µl.

Pour un même genre bactérien, les diamètres à 3 et 5 µl ne sont pas tous homogènes, et certains présentent des valeurs très élevées par rapport aux médianes des diamètres : pour d'autres la dispersion est beaucoup plus restreinte (Figures 1-4).

Pour les colibacilles, l'huile G ne génère pas de diamètres d'inhibition à 3 µl et un très léger diamètre à 5 µl pour la souche 1966 de *E. coli* NS. L'activité antibactérienne de l'huile G est donc très faible.

Les HE D et J génèrent un faible diamètre pour les souches de *E. coli* à 3 µl et à 5 µl, avec une faible amplitude (<10 mm) avec des résultats légèrement plus élevés pour l'HE D .

Pour les HE B, H et K les diamètres d'inhibition sont plus élevés mais avec des amplitudes beaucoup plus larges (15 à 20 mm) La souche 2611 de *E. coli* NS présente un diamètre très élevé à 34,5 mm à 5 µl pour l'HE K.et 33 mm pour 3 µl. Les diamètres pour l'HE K semblent plus variables par rapport aux HE B et H.

Les mêmes remarques peuvent être faites pour les entérocoques avec la souche de *E. cecorum* (19-0190) présentant des diamètres beaucoup plus élevés > 30 mm que la moyenne pour les HE H et K à 3 µl et à 5 µl. A l'inverse la souche d'*E hirae* 21-2236 génère des diamètres < 20 mm.

L'analyse statistique par le test de Wilcoxon Mann Whitney (Tableau 2) des diamètres à 3 µl et à 5 µl pour chaque HE entre les entérocoques et les colibacilles, nous indique une différence significative pour 4 HE B, D, H et J à 3 et 5 µl ($p<0,05$) et une différence significative pour l'HE K uniquement à 5 µl. Il n'y a de différence pour l'HE G aux 2 dosages ($P>0,05$).

2.2 Discussion

Les HE B, H et K, respectivement la cannelle, l'origan et le thym à thymol, sont les 3 HE majeures générant les plus grands diamètres d'inhibition pour les colibacilles comme pour les entérocoques. Cependant au sein d'une même famille, les diamètres observés sont très variables et certaines souches sont moyennement sensibles alors que d'autres le sont beaucoup plus. Ce qui pourrait expliquer des efficacités différentes suivant les souches identifiées.

La baisse des diamètres d'inhibition entre 3 µl et 5 µl indique bien que la quantité de composant aromatique est liée à la taille du halo est donc à la sensibilité. De ce fait pour qu'un produit revendique une vraie activité antibactérienne, il est important d'avoir une bonne quantité de principe actif antibactérien. Des produits sous dosés bien que contenant des actifs antibactériens peuvent ne pas avoir d'activité antibactérienne et s'avérer inefficaces.

L'HE G (le niaouli) ne présente pratiquement pas de diamètre d'inhibition tant à 5 µl qu'à 3 µl, cette HE n'a donc pas d'activité antibactérienne. Le 1-8 cinéol

est plus réputé pour son activité mucolytique et son activité antivirale que pour son activité antibactérienne.
L'HE D (le clou de Girofle) semble avoir une activité antibactérienne plus élevée sur les colibacilles avec un diamètre supérieur à 10 mm aux 2 dosages et moins bonne pour les entérocoques.
L'HE J (thym à feuille de sarriette) bien que comportant du carvacrol comme pour l'origan (Huile H) semble moyennement actif sur les colibacilles et sur une souche d'entérocoque.
Les colibacilles sont plus sensibles à l'origan que les entérocoques aux 2 dosages ; pour les autres HE, la différence n'est significative qu'5 µl pour le thym à Thymol et à feuille de Sarriette.
La différence d'efficacité pourrait s'expliquer par la différence de structure de la paroi des bactéries plus épaisse sur les bactéries à Gram positif. L'activité antibactérienne des HE est conférée par sa lipophilie qui lui permet de traverser les membranes phospholipidiques et de créer des trous générant des fuites d'ions potassium néfastes pour la survie de la bactérie (Swamy et al., 2016), les HE traversant plus rapidement, probablement, les bactéries à Gram négatif où la paroi est plus fine.

CONCLUSION

Les HE de cannelle, de thym à Thymol et d'origan permettent d'inhiber la croissance in vitro des entérocoques et des colibacilles avec une activité plus importante sur les colibacilles à dose équivalente.
Cette étude a permis de bien identifier plusieurs HE avec des actions potentielles qui pourraient être décuplées avec une association de ces HE. Une étude plus poussée du potentiel synergique pourrait être menée (Mauviseau, 2016).
La variabilité de sensibilité suivant les souches, démontrée par cette étude explique parfois des échecs aux traitements à base d'HE qui pourraient être limités en prenant soin de réaliser un aromatogramme comme cela est désormais vivement recommandé pour le recours aux antibiotiques avec l'antibiogramme Le recours aux HE en médecine vétérinaire est donc une vraie thérapeutique alternative aux antibiotiques qui mérite un encadrement médical.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) 2014. Évaluation des risques d'émergence d'antibiorésistances liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale. Saisine n° 2011-SA-0071.

Calvo, M. A., Arosemena, E. L., Shiva, C., & Adelantado, C.,2011, Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, 1179-1185.

Dahigaonkar, K., Deshmukh, K., Kulkarni, S., & Mondal, R. ,2018,. World Journal of Pharmaceutical research (7) 372-382

ECOANTIBIO II 2017-2021: Réduire l'utilisation des antibiotiques vétérinaires. https://agriculture.gouv.fr/ecoantibio

Faucon M, 2015 Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Ed Sang de la Terre.

Fournomiti, M., Kimbaris, A., Mantzourani, I., Plessas, S., Theodoridou, I., Papaemmanouil, V., & Alexopoulos, A. ,2015,.. Microbial ecology in health and disease, 26(1), 23289.

Franchomme P., et al.,2001. L'aromathérapie exactement. Ed Jollois.

Mansouri, N., Aoun, L., Dalichaouche, N., & Hadri, D. ,2018,. Veterinary world, 11(11), 1539.

Mauvisseau T.,2016. Le Point vétérinaire.,(47), 76-83

Melo, A. D. B., Amaral, A. F., Schaefer, G., Luciano, F. B., de Andrade, C., Costa, L. B., & Rostagno, M. H. ,2015,. Canadian journal of veterinary research, 79(4), 285-289.

Oussalah, M., Caillet, S., & Lacroix, M. ,2006,. Journal of food protection, 69(5), 1046-1055.

Swamy, M. K., Akhtar, M. S., & Sinniah, U. R. ,2016,. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016.

Tableau 1. Moyenne des diamètres d'inhibition pour les Entérocoques et les colibacilles à 3 et 5 µl pour les 5 HE

Enterocoque	Concentration (3 µL)			Concentration (5 µL)		
Huile essentielle	Moyenne de Diamètre	Max. de Diamètre	Min. de Diamètre	Moyenne de Diamètre	Max. de Diamètre	Min. de Diamètre
B	19,39	25,50	14,50	21,00	27,50	15,50
D	9,46	11,50	7,00	10,79	13,50	9,00
G	6,07	6,50	6,00	6,14	7,00	6,00
H	20,00	30,50	16,00	22,61	34,00	18,50
J	8,29	10,00	6,00	11,46	17,50	9,50
K	19,82	29,50	15,00	22,25	33,50	15,00

Colibacille	Concentration (3 µL)			Concentration (5 µL)		
Huile essentielle	Moyenne de Diamètre	Max. de Diamètre	Min. de Diamètre	Moyenne de Diamètre	Max. de Diamètre	Min. de Diamètre
B	25,95	30,00	21,00	29,05	33,50	25,00
D	13,13	17,50	11,50	15,15	20,00	12,00
G	6,00	6,00	6,00	6,28	10,50	6,00
H	23,95	30,50	17,50	29,98	40,00	21,00
J	9,90	11,00	8,50	12,88	17,50	8,00
K	21,00	33,00	14,50	27,90	37,00	20,50

Tableau 2. P value de la comparaison des diamètres entres colibacilles et entérocoques en fonction des HE (Test Wilcoxon-Mann-Whitney)

HE	Dosage	p value	Dosage	p value
B	3 µl	5,18E-05	5 µl	3,77E-05
D		1,54E-05		2,74E-04
G		0,1		0,51
H		0,032		0,0017
J		0,00046		0,044
K		0,98		0,012

Figure 1. Répartition des diamètres d'inhibition des Entérocoques à 5 µl

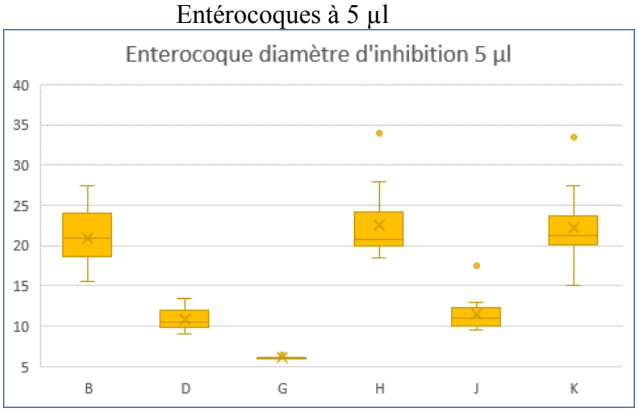


Figure 2. Répartition des diamètres d'inhibition des Entérocoques à 3 µl

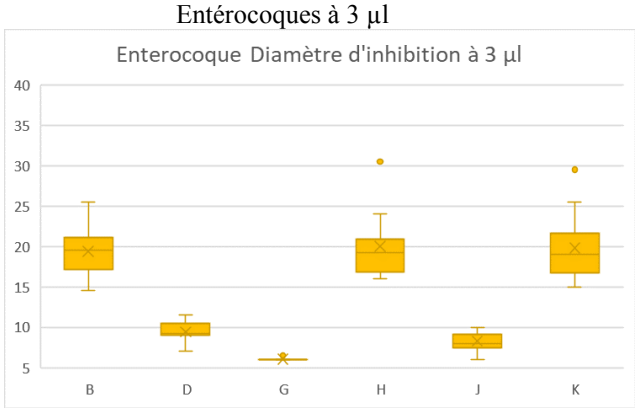


Figure 3. Répartition des diamètres d'inhibition des Colibacilles à 5 µl

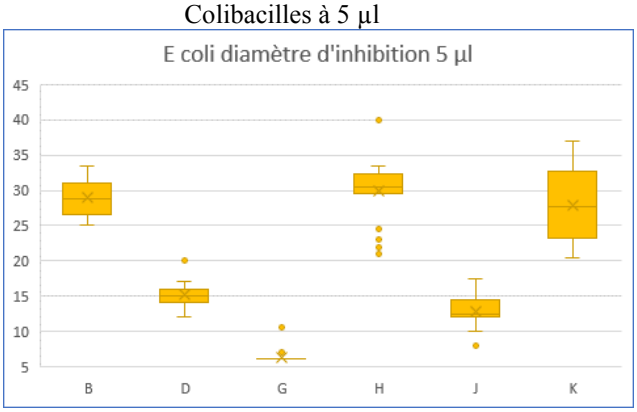
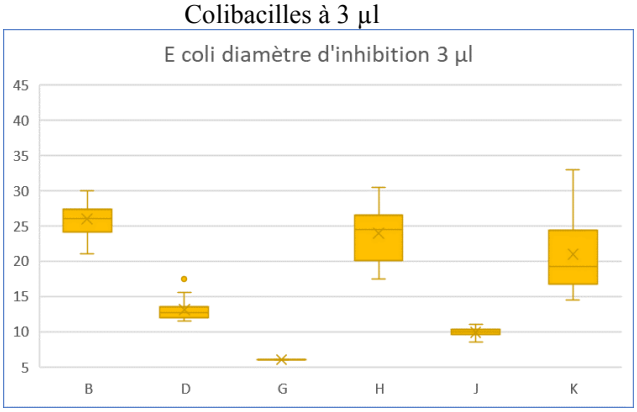


Figure 4. Répartition des diamètres d'inhibition des Colibacilles à 3 µl



CARACTERISATION DE *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* DANS LE CADRE D'EPISODES DE BOTULISME AVIAIRE EN FRANCE : EVALUATION D'UN NOUVEL OUTIL

Le Gratiet Thibault[1], Anniballi Fabrizio[2], Boutant Jérémy[3], Mellal Mokrane[4], Rouxel Sandra[1], Poezevara Typhaine[1], Houard Emmanuelle[1], Rose Valérie[1], Briand François-Xavier[5], Chemaly Marianne[1], Le Maréchal Caroline[1]

[1]ANSES PLOUFRAGAN-PLOUZANE-NIORT, UNITE HYGIENE ET QUALITE DES PRODUITS AVICOLES ET PORCINS - BP53 – 22440 PLOUFRAGAN, FRANCE
[2]ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA – CNR BOTULISME ITALIEN – ROME, ITALIE
[3] SOCAVET, 75 boulevard de Penthièvre, 22600 LOUDEAC, FRANCE
[4] VET&SPHERE – RESEAU CRISTAL, ZI DE TIRPEN, 56140 MALESTROIT, FRANCE
[5]ANSES PLOUFRAGAN-PLOUZANE-NIORT, UNITE VIROLOGIE, IMMUNOLOGIE, PARASITOLOGIE AVIAIRE ET CUNICOLES - BP53 – 22440 PLOUFRAGAN
caroline.lemarechal@anses.fr

RÉSUMÉ

Le botulisme aviaire est une maladie neuroparalytique sévère, dû à l'action de la toxine botulique produite par *Clostridium botulinum*, touchant à la fois les oiseaux sauvages et d'élevage. L'absence d'outils de typage aboutit à une méconnaissance de l'épidémiologie du botulisme aviaire. L'isolement des souches de *C. botulinum* est difficile, ce qui empêche d'appliquer directement les outils qui existent en routine pour d'autres espèces bactériennes et nécessite le développement d'outils dédiés et adaptés. Une méthode de typage nommée Multi Loci VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) analysis (MLVA) a ainsi été développée récemment pour caractériser *C. botulinum* dans le cadre d'épisodes de botulisme animal directement à partir des échantillons, sans étape d'isolement. Cette méthode basée sur le polymorphisme de régions répétées (VNTR) consiste à amplifier 7 cibles différentes par PCR puis à déterminer pour chaque cible le nombre de répétitions. L'objectif de notre étude était de caractériser *C. botulinum* dans le contexte d'épisodes de botulisme aviaire en France via cette méthode MLVA. Vingt souches pures représentatives de la collection du LNR botulisme aviaire ont été sélectionnées et comparées par MLVA. Les résultats montrent que les souches de type C/D, type le plus fréquent en aviaire, se regroupent ensemble avec un pourcentage de similarité compris entre 52,2 et 100%, que ces souches soient associées à un foyer en élevage ou un cas en faune sauvage. Notre étude n'a pas permis la mise en évidence de lien entre la répartition des souches selon leur profil MLVA et l'année, le département ou l'espèce d'origine. La méthode a également été testée dans le cadre d'investigations menées dans un élevage de dindes présentant des récidives sur des lots successifs. Le même profil a été détecté au cours des 3 épisodes différents, suggérant la persistance de la souche au cours du temps. Cette étude montre que la MLVA constitue un outil de typage prometteur pour explorer l'épidémiologie moléculaire du botulisme aviaire, que ce soit à partir de souches isolées ou d'échantillons du terrain.

ABSTRACT

Typing of *C. botulinum* involved in avian botulism outbreaks in France: Evaluation of a new tool.

Avian botulism is a severe neuroparalyic disease affecting both poultry and wild birds. This disease is due to the botulinum neurotoxin produced by *Clostridium botulinum*. Unavailibity of typing tools results in a poor understanding of the epidemiology of avian botulism. Indeed, *C. botulinum* isolation is very difficult, preventing the use of common typing tools. The development of typing tools dedicated to the study of *C. botulinum* is needed. A typing tool named Multi Loci VNTR Analysis (MLVA) has been recently developed to characterize *C. botulinum* within the frame of animal botulism, directly useable on samples without requiring strain isolation. This method is based on the polymorphism of repeated regions (VNTR). Seven VNTR regions are amplified using PCR and sized to determine the number of repeats of each region. The aim of this study was to characterize *C. botulinum* involved in avian botulism outbreaks in France using MLVA. Twenty isolated strains representative of the French NRL collection were selected and compared. Results showed that French type C/D strains, the most common neurotoxin type in avian botulism clustered together with similarities ranging from 52.2% to 100%, including both wild bird and poultry strains. No link was highlighted in our study between strain distribution and factors such as year of the outbreak, location or bird species. MLVA was also directly tested on samples collected in a turkey farm where recurrent botulism outbreaks occured in successive flocks. The same MLVA profile was detected on samples collected from 3 different outbreaks, suggesting the persistence of the strain over time in the farm. This study showed that MLVA is a promising typing tool for the exploration of the molecular epidemiology of avian botulism, either on isolated strains or on field samples.

INTRODUCTION

Le botulisme est une maladie neuroparalytique sévère causée par l'action de la neurotoxine botulique produite par des bactéries du genre *Clostridium*, notamment *Clostridium botulinum*, bactérie ubiquitaire à coloration de Gram positif, anaérobie stricte et sporulée. Neuf types de toxine botulique sont décrites (classés de A à G, H et X) et plus de 40 sous-types ont été caractérisés à ce jour (Anses 2021).
De nombreuses espèces animales sont sensibles au botulisme dont les espèces aviaires. En France, environ 25 foyers de botulisme aviaire ont été recensés annuellement sur la période 2009-2019 (Anses 2021), la toxine majoritairement identifiée étant la toxine C/D (Anses 2021). Des épisodes associés aux toxines C, D, D/C ou E sont également rapportés mais à une fréquence beaucoup plus faible. En élevage, les épisodes de botulisme entrainent des pertes économiques majeures (Souillard et al. 2014). Les foyers de botulisme en avifaune sauvage vont pour leur part avoir des conséquences écologiques importantes, certains épisodes pouvant affecter jusqu'à plusieurs dizaines de milliers d'oiseaux sauvages (Rocke 2006).
Malgré ce contexte, l'épidémiologie du botulisme aviaire est encore méconnue et les données d'épidémiologie moléculaire relatives aux souches impliquées dans le botulisme animal sont quasi inexistantes à ce jour. Ceci s'explique principalement par le fait que ces souches sont difficiles à isoler. Différents facteurs expliquent cette difficulté notamment l'absence de milieu sélectif. Cela constitue actuellement un verrou méthodologique à la caractérisation des souches de *C. botulinum* responsables des épisodes de botulisme animal.
L'approche classique pour typer une souche bactérienne est d'isoler la souche puis de la caractériser ensuite. Une stratégie pour pallier la difficulté rencontrée pour isoler les souches de *C. botulinum* est l'utilisation d'outils permettant de s'affranchir de cette étape d'isolement.
La méthode de typage appelée Multi Loci VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) Analysis (MLVA) est basée sur le polymorphisme de plusieurs VNTR, des régions du génome présentant des séquences répétées. Cette méthode consiste en la détermination du nombre de répétitions au niveau de de différents VNTR. Elle présente l'avantage majeur d'être utilisable directement à partir des ADN bruts. Cette méthode est en effet basée sur des amplifications par PCR, permettant de travailler directement sur les échantillons (Chen et al. 2011). La MLVA est couramment utilisé avec succès pour le typage de nombreuses espèces bactériennes pathogènes (Van Belkum. 2007), dont les souches de *C. botulinum* impliquées dans le botulisme humain (Fillo et al. 2011).
Une méthode MLVA a été développée pour typer *C. botulinum* dans le contexte d'épisodes de botulisme animal dans le cadre d'un projet précédent (ANIBOTNET) et testée sur un panel de souches européennes (Auricchio et al, 2019).
L'objectif de notre étude est de tester cette méthode MLVA à la fois sur des souches isolées en France mais également sur des échantillons du terrain collectés dans le cadre d'investigations épidémiologiques menées dans un élevage avicole.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Sélection des souches et échantillons

1.1.1 Souches pures de *C. botulinum*

Vingt souches de *C. botulinum* de la collection du LNR botulisme aviaire représentatives des épisodes de botulisme aviaire français survenus entre 2014 et 2019 (années, types toxiniques, espèces affectées, ratio élevage/faune sauvage, localisation) ont été sélectionnées pour être caractérisées selon la méthode MLVA qui a été développée pour *C. botulinum* de type C, D, C/D et D/C. Ces souches ont été isolées en 2019 dans le cadre d'une étude précédente (Le Gratiet et al. 2020).

1.1.2 Echantillons collectés dans le cadre du suivi épidémiologique d'un épisode de botulisme

La méthode a par ailleurs été testée afin d'évaluer la possibilité de tracer la contamination par *C. botulinum* au cours d'un épisode de botulisme via l'utilisation de l'approche MLVA. Pour cela, un élevage de dindes ayant connu des épisodes successifs de botulisme a été retenu. Le premier épisode a été confirmé en laboratoire en avril 2019 via l'analyse de foies d'animaux atteints qui a permis de mettre en évidence *C. botulinum* de type C/D par PCR. Sur les 4 bâtiments que comprend l'élevage, 3 ont été atteints avec des taux de mortalité élevés (100% des mâles dans 2 bâtiments et 100% des femelles dans le troisième). L'apparition des signes cliniques a été observée à 55 jours dans un bâtiment et 82 et 93 jours dans les 2 autres bâtiments. Pour notre étude, 3 foies provenant de 2 bâtiments ont été inclus (Echantillons A, B, C).
Une enquête épidémiologique a ensuite été menée dans cet élevage pour identifier la source de contamination et a permis de détecter *C. botulinum* de type C/D dans un tas de blé (5 positifs sur 8 échantillons prélevés sur l'ensemble du tas) stocké dans un hangar de l'élevage et utilisé par l'éleveur en complément de l'aliment commercial dans les 3 bâtiments atteints. Ce blé n'était pas utilisé dans le quatrième bâtiment de l'élevage, non atteint pendant l'épisode. Un échantillon de blé provenant du tas de blé positif pour *C. botulinum* type C/D (Echantillon D) et une chiffonnette prélevée au niveau d'une mangeoire d'un des bâtiments atteints (Echantillon E) ont été inclus dans notre étude.

L'élevage a ensuite connu deux récidives de botulisme en septembre 2019 et aout 2020. Des foies prélevés sur des dindes présentant des signes cliniques lors de ces deux épisodes (Echantillons F, G et H) ainsi qu'une chiffonnette de la chaine d'alimentation d'un des bâtiments atteint de botulisme lors du dernier épisode (Echantillon I) ont été inclus dans l'étude.
Les 9 échantillons sélectionnés présentent un signal précoce en PCR (Ct inférieur à 30), afin de disposer d'une quantité d'ADN suffisante pour obtenir une amplification exploitable des régions VNTR testées.

1.2. Typage de *C. botulinum* par MLVA

Le typage par MLVA a été mis en œuvre tel que décrit précédemment (Souillard et al. 2021) en se basant sur l'analyse de 7 VNTR au lieu de 9 (les VNTR 20 et 23 présentaient en effet des amplifications non reproductibles et laboratoires dépendants (données non présentées) et n'ont donc pas été utilisées dans le cadre de cette étude). Brièvement, 7 VNTR ont été amplifiées par PCR. La taille des amplicons a ensuite été déterminée par électrophorèse capillaire et le nombre de répétitions a été déterminé par séquençage Sanger des amplicons. Un code MLVA à 7 chiffres (correspondant au nombre de répétitions obtenues pour chaque VNTR) a été attribué à chaque échantillon. Les codes ont ensuite été importés dans le logiciel Bio Numerics 7.5 (Applied Maths, Sint□Martens□Latem, Belgique) pour la construction d'un dendrogramme construit en utilisant un coefficient catégoriel et l'algorithme UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean). Les profils MLVA de *C. botulinum* en provenance d'autres pays publiés précédemment (Auricchio et al. 2019) et d'échantillons typés dans le cadre d'une autre enquête épidémiologique (Souillard et al. 2021) ont été ajoutés dans le dendrogramme.
L'indice de discrimination de Hunter-Gaston (HGDI) pour le schéma MLVA a été calculé (Hunter and Gaston, 1988) avec un intervalle de confiance à 95% (Grundmann et al., 2001).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Comparaison de la sélection des souches pures par MLVA

Le premier objectif de notre étude était de comparer par MLVA une sélection de souches françaises de *C. botulinum* avec les autres souches déjà typées précédemment en utilisant la méthode MLVA (Auricchio et al. 2019, Souillard et al. 2021). L'indice HGDI calculé est 0.98 (95% CI 0,96 – 0.99), > 95%, valeur recommandée pour valider un schéma de typage.
Le type toxinique le plus fréquemment associé au botulisme aviaire est le type C/D, les types D et D/C sont également détectés mais à une fréquence beaucoup plus faible (Anses 2021). Le profil de 4 souches de type D et 3 de D/C a été inclus dans le dendrogramme. Bien que le nombre de souches de type D et D/C soit faible, une tendance des souches à se regrouper par type toxinique est observée (Figure 1). Cette répartition des souches en fonction de leur type toxinique par la méthode MLVA est en accord avec les analyses des génomes publiées dans la littérature qui montrent une répartition des souches dans des lignées différentes en fonction de leur type toxinique (Skarin et al. 2014 ; Fillo et al. 2021). Compte tenu du nombre restreint de souches, ce résultat reste cependant à confirmer via l'analyse d'un plus grand nombre de souches.
Pour *C. botulinum* de type C/D, les souches françaises présentent un pourcentage de similarité compris entre 52,2% et 100%. Elles se répartissent en 6 profils de 1 à 6 souches avec un pourcentage de similarité intra-groupe de 100%. Ces 6 profils comprennent des souches provenant de départements différents, ne permettant pas de mettre en évidence un lien entre un profil MLVA et une origine géographique.
A première vue, une tendance au regroupement des souches de type C/D par pays semble se dessiner dans la figure 1 sur la base de l'analyse des souches isolées en France et en Italie. Cependant, peu de souches d'autres pays que la France et l'Italie ont été typées par MLVA pour le moment. De plus, les quelques souches en provenance d'Allemagne et de Suède s'intercalent dans les groupes de souches d'origine française ou italienne, suggérant que des souches présentant des profils MLVA identiques peuvent être retrouvées malgré une origine géographique différente. Cette proximité de souches isolées de pays différents avait déjà été suggérée via la comparaison par PFGE (Pulse Field Gel Electrophoresis, autre méthode de typage bactérien très classique) de souches isolées en Suède et en Espagne pour des épisodes survenus en 2007, 2008, 2010 et 2011 (Anza et al. 2014). Dans notre étude, l'année de survenue de l'épisode de botulisme n'est pas disponible pour l'ensemble des souches, ne permettant pas d'évaluer une éventuelle différence liée à l'année d'isolement.
Le typage d'un nombre plus important de souches en provenance d'autres pays que la France et l'Italie est nécessaire pour explorer l'effet « origine géographique » et « date d'isolement » dans la comparaison des souches par MLVA.
Des souches isolées de cas de botulisme en faune sauvage et de foyers en élevages se regroupent. Ainsi, 10 souches (6 de faune sauvage et 4 d'élevages ; cf. encadré rouge dans la Figure 1) présentent un pourcentage de similarité d'au moins 73%. Par ailleurs 2 souches (B19LNRB07 isolée de poulet et N19LNRB01 de canard colvert) présentent un pourcentage de similarité de 100%. Enfin, 3 souches présentent le même profil MLVA (B19LNRB11 provenant d'un élevage et B19LNRB06 et B19LNRB13 provenant de cas en faune sauvage). La proximité génétique des souches impliquées dans les cas en faune sauvage et les épisodes en élevage a été rapportée récemment dans une étude menée via une comparaison génomique de souches isolées en Italie

(Fillo et al. 2021). Aucun lien épidémiologique n'a cependant pu être mis en évidence entre ces cas (années et départements différents). Des analyses complémentaires sont nécessaires pour comparer des souches isolées de mêmes zones géographiques et sur une même période afin d'évaluer et déterminer les risques de transmission entre la faune sauvage et les élevages.

2.2 La MLVA comme outil pour identifier la source de contamination et tracer la contamination lors d'épisodes successifs de botulisme dans un élevage avicole.

Le second objectif de notre étude était d'évaluer la possibilité d'utiliser la MLVA pour tracer la contamination via l'application de cette approche à l'étude d'un cas concret. Pour cela, 9 échantillons collectés dans le cadre d'épisodes successifs de botulisme de type C/D dans un élevage de dindes ont été sélectionnés. L'analyse MLVA de ces 9 échantillons a permis d'obtenir le même profil dans tous les échantillons (Figure 1 en bleu), profil différent des profils obtenus pour les autres souches typées jusqu'alors, suggérant la présence de la même souche ou d'une souche très proche dans ces 9 échantillons. L'enquête épidémiologique menée dans cet élevage avait montré que le blé stocké dans l'élevage et distribué aux animaux constituait la source la plus probable de contamination à l'origine du premier épisode. Le même profil MLVA a été détecté dans les foies des animaux atteints, le blé stocké et la chiffonnette réalisée au niveau de la mangeoire dans un des bâtiments, supportant cette hypothèse. L'origine de la contamination lors des épisodes de botulisme aviaire est rarement identifiée, l'aliment est cependant souvent suspecté (Anses 2021). Notre étude semble donc confirmer l'aliment comme une source de contamination potentielle à l'origine de l'initiation d'un épisode.
Les échantillons collectés lors des 2 autres épisodes survenus la même année et l'année suivante présentent le même profil que les échantillons du premier épisode, suggérant l'implication de la même souche ou d'une souche très proche dans l'ensemble des épisodes de botulisme dans cet élevage. Les analyses de détection de *C. botulinum* de type C/D réalisées après les opérations de nettoyage et désinfection via le chiffonnage de surfaces dans et aux abords des bâtiments depuis la survenue du premier épisode en avril 2019 montrent une persistance de la contamination dans l'élevage, pouvant expliquer les récidives observées. La forte résistance de *C. botulinum* dans l'environnement est largement décrite dans la littérature et des récidives sont fréquemment rapportées (Souillard et al. 2014).

CONCLUSION

Cette étude montre que la MLVA est un outil de typage adapté à l'étude de l'épidémiologie moléculaire de *C. botulinum* dans le cadre d'épisodes de botulisme aviaire en particulier pour permettre de tracer une souche ou d'identifier les sources de contamination sans passer par l'étape longue et fastidieuse d'isolement.
L'utilisation de cet outil à l'échelle européenne, que ce soit en élevage ou en faune sauvage pourrait permettre la mise en évidence de liens épidémiologiques potentiels entre les épisodes de botulisme.

REMERCIEMENTS

Cette étude a reçu le soutien financier du conseil départemental des Côtes d'Armor. Thibault Le Gratiet a été le lauréat d'une bourse de mobilité de l'association MedVetNet et de l'école doctorale EGAAL pour un séjour au Centre National de Référence pour le botulisme italien basé à l'Istituto Superiore di Sanità de Rome qui a permis le transfert de la méthode MLVA au laboratoire de l'Anses dans le cadre de sa thèse financée par la région Bretagne et l'Anses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Anses (2021). (Saisines 2019-SA-0112 à 2019-SA-0115). Maisons-Alfort : Anses, 170 p.
Anza, I., 2014. *Anaerobe*, 26 (1), 20-23
Auricchio, B., 2019. ANIBOTNET Workshop Botulism, Paris, 28-29 march 2019.
Chen, S., 2011. *Int J Food* Microbiol, 148 (1), 8-14
Fillo, S., 2011. *J Clin Microbiol*, 49 (12), 4252-4263.
Fillo, S., 2021. *Microorganisms*, 9 (11), 2347
Grundmann H., 2001. *J. Clin. Microbiol.* 39, 4190–4192.
Hunter, P. R., 1988. *J. Clin. Microbiol.* 26, 2465–2466.
Le Gratiet, T. 2020 *Toxins.* 12, 42.
Rocke, T.E., 2006. *Waterbirds around the world*, 422-426.
Skarin, H., & Segerman, B. 2014. *PLoS One, 9* (9), e107777.
Souillard, R., 2014. *Avian Pathol,* 43 (5), 458-464
Souillard, R., 2021. *Frontiers in Microbiology*, 12 (1753)
Van Belkum, A., 2007. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 49 (1), 22-27
Vidal, D., 2013. *Appl Environ Microbiol*, 79 (14), 4264-4271.
Woudstra, C., 2012. *Appl Environ Microbiol,* 78 (9), 3120-3127

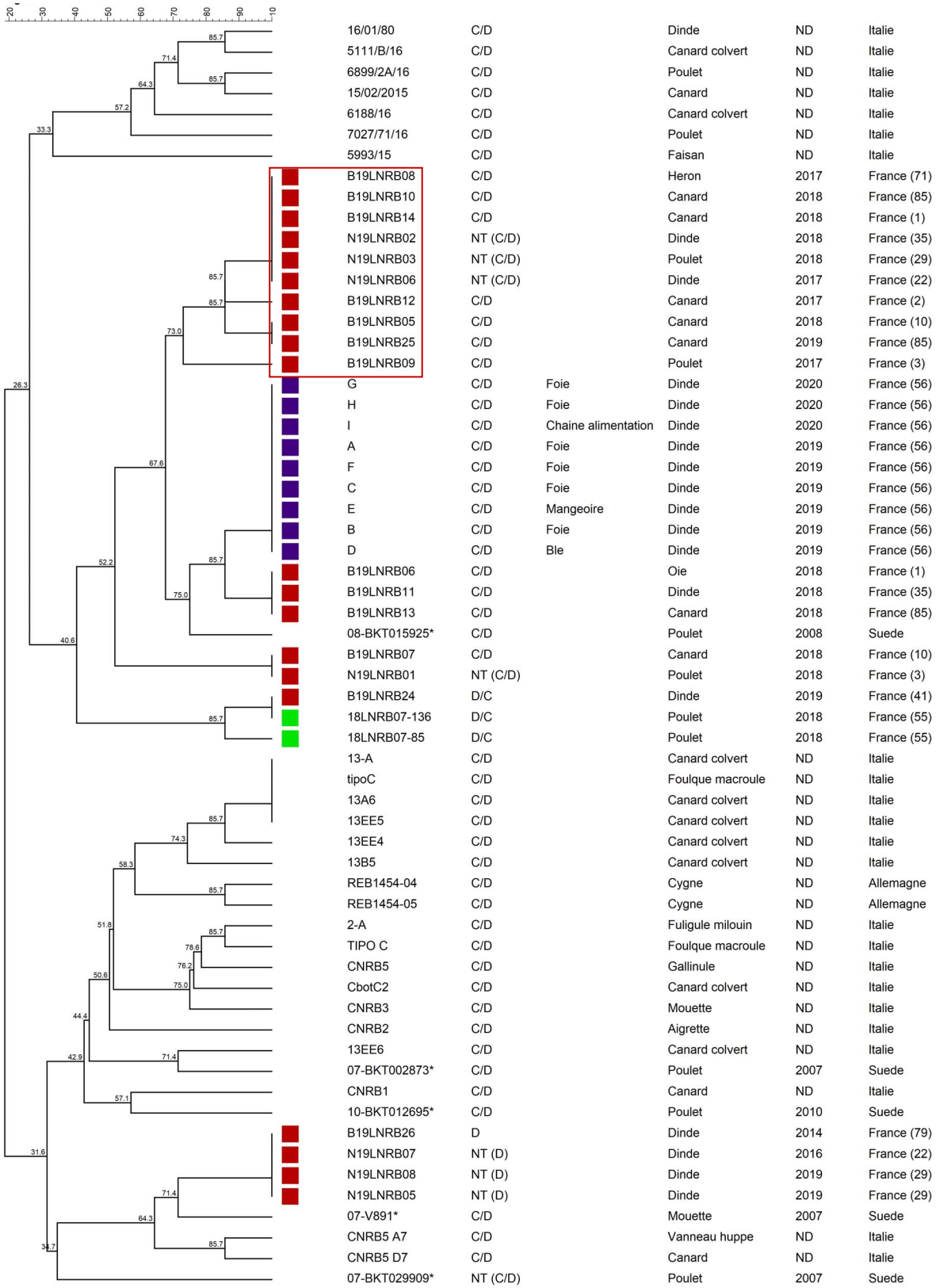


Figure 1. Dendrogramme représentant les profils MLVA (7 VNTR) de souches pures de *C. botulinum* impliquées dans des épisodes de botulisme aviaire en France (en ■), d'échantillons bruts provenant de 3 épisodes de botulisme successifs dans un élevage de dindes (en ■) et de profils publiés précédemment (Auricchio et al. 2019; Souillard et al. 2021 (en ■)). Construit avec le logiciel de BioNumerics 7.5.) Encadré rouge :10 souches de *C. botulinum* de type C/D avec un % de similarité>73%. *= Génome disponible. NT= Non toxique ND = Non déterminée

CARACTÉRISATION DES SOUCHES D'ORNITHOBACTERIUM RHINOTRACHEALE PAR SÉROTYPAGE ET SPECTROSCOPIE INFRAROUGE

M. Mellal[1], A. Mercier[1], D. Rubeaux[1], H. Gantelet[2] et S. Castagnos[2]

[1] VET&SPHERE – Réseau Cristal, ZI de Tirpen, 56140 Malestroit, France

[2]Ceva Biovac, 6 Rue Olivier de Serres, 49070 Beaucouzé, France

m.mellal@reseaucristal.fr

RÉSUMÉ

Les infections à *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) sont fréquentes en dindes de chair et causent des troubles respiratoires ou articulaires. L'objectif de l'étude est de caractériser des isolats d'ORT par sérotypage et par une méthode innovante, la spectroscopie infrarouge (IR), afin de déterminer des liens épidémiologiques éventuels et montrer une possible discrimination en fonction de l'organe d'isolement. L'IR permet d'étudier phénotypiquement des bactéries, contrairement aux outils qui s'intéressent à la génétique.

Un échantillon de 41 isolats issus de 21 élevages de dindes élevées en Bretagne de janvier 2020 à avril 2021 a été analysé. Les isolats proviennent de différents organes de sujets présentant des signes cliniques. Sur un plan épidémiologique, l'IR regroupe dans un cluster plusieurs isolats issus de lots non contemporains d'un élevage. A contrario, 3 isolats d'un même lot de dindes se retrouvent séparés les uns des autres dans le dendrogramme. 88% des isolats appartiennent au sérotype 1 et sont sous-typés par IR. Parmi les 5 clusters distingués, l'un d'entre eux est dominant avec 23 isolats (56%) provenant de 15 élevages différents. Au sein de ce cluster, l'origine tissulaire des isolats est indifféremment respiratoire ou articulaire.

L'IR apparaît intéressante en montrant soit la résidence d'une même bactérie au sein d'un élevage, soit une diversité d'isolats pouvant circuler dans un même lot. Des disparités sont observées par IR sur des isolats appartenant au sérotype 1 sans relation avec le tropisme d'isolement.

ABSTRACT

Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates by serotyping and infrared spectroscopy

Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) infections are common in turkey broilers production. The objective of this study is to characterize ORT isolates by serotyping and by an innovative method, infrared spectroscopy (IR) in order to determine epidemiological links and relations with isolation tissues. IR method allows phenotypic characterization which is impossible with genetic tools.

A sample of 41 isolates from 21 broiler turkey farms located in Brittany from January 2020 to April 2021 has been analyzed. Isolates come from different organs: trachea (16 isolates), lungs (9 isolates), air sacs (2 isolates) and joints (14 isolates) in birds with respiratory clinical signs and / or tenosynovitis.

Epidemiologically, several isolates from flocks raised in the same farm at different times are clustered. By contrast, 3 isolates from a same flock are separated from each other in the dendrogram. In this current case, 88% of isolates belong to serotype 1 and are IR subtyped in various clusters or singles. There are 5 separate clusters, including a dominant group with 23 isolates (56%) coming from 15 different farms. Within this main cluster, the sampling is either respiratory or articular.

In conclusion, IR appears to be an interesting method beyond serotyping, by showing either the residence of the same bacterium in a farm, or a diversity of isolates circulating in the same flock. Differences are observed by IR within a group of isolates largely belonging to serotype 1 unrelated to tropisms.

INTRODUCTION

La première description d'un cas clinique à *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) date de 1993 (Charlton *et al.*). Une bactérie à Gram négatif alors non identifiée avait été isolée de volaille domestique atteinte d'une maladie respiratoire (dinde et poulet). Depuis lors, de nombreux cas ont été rapportés dans d'autres pays sur différentes espèces de volailles. En France, la pathologie se présente majoritairement sous la forme de troubles respiratoires ou articulaires sur les dindes.
Les souches d'ORT peuvent être classées selon leur sérotype, via l'immunodiffusion en gel (Van Empel *et al*.) et aujourd'hui 18 sérotypes (A-R) sont décrits (Hafez et Sting 1999). Toutefois la disponibilité limitée des antisera et l'existence de réactions croisées entre sérotypes restreignent le sérotypage.
De nouvelles méthodes de caractérisation des souches bactériennes sont désormais disponibles comme la spectroscopie infrarouge (IR) à transformée de Fourier. Cette approche est particulièrement séduisante car en lien direct avec la recherche de l'expression phénotypique de molécules à la surface des bactéries et par conséquent un complément idéal au sérotypage classique.
L'objectif de notre étude de notre étude est de caractériser des isolats d'ORT issus de plusieurs cas cliniques en élevage par sérotypage et IR.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. *Collection des isolats*

Une collection de 41 isolats provenant de 21 élevages différents a été étudiée. Tous ces isolats sont issus de dindes de chair avec signes cliniques d'ornithobactériose à partir d'organes de l'appareil respiratoire (27/41) dont le poumon (9 isolats), les sacs aériens (2 isolats), la trachée (16 isolats) ou de l'appareil locomoteur (14 isolats).
Les élevages sont situés dans le Morbihan avec des récurrences d'infection à ORT plus ou moins importantes entre janvier 2020 et avril 2021. Pour les élevages avec plusieurs isolats, il peut s'agir soit du même lot de dindes avec plusieurs mises en culture lors de la même séance d'autopsie, soit d'animaux présentés au laboratoire à des périodes différentes.

1.2. *Sérotypage par IDG*

Les antisera ont été préparés à Ceva Biovac par immunisation de lapins et permettent de distinguer 5 sérotypes, appelés de sérotype 1 à sérotype 5. Cette classification est interne à Ceva Biovac.
Les antigènes sont extraits à partir d'une culture de la bactérie traitée au bain-marie bouillant puis analysés par immunodiffusion en gel (IDG) selon la technique d'Ouchterlony (Van Empel *et al*.).

1.3. *Spectroscopie infrarouge*

L'appareil utilisé est un IR Biotyper de la société Bruker Daltonics. Les analyses ont été réalisées à RESALAB Ouest (Les Herbiers).
Les empreintes spectrales générées ont concerné la région des polysaccharides. Les résultats sont visualisés à l'aide d'un dendrogramme pour lequel des métadonnées ont été ajoutés (organe d'isolement, élevage, sérotype).
La standardisation de la culture et aussi de l'analyse IR sont des points critiques de la méthode.
L'analyse IR est réalisée sur une suspension bactérienne préparée à partir de colonies pures de chaque isolat selon le protocole recommandé par Bruker Daltonics.

2. RESULTATS

2.1. *Sérotypage*

Sur 41 isolats, 36 appartiennent au sérotype 1 soit 88%. Les autres isolats appartiennent soit au sérotype 4 (1/41) soit à aucun des 5 sérotypes définis (4/41). Le sérotype 1 est retrouvé quel que soit l'organe d'isolement contrairement aux isolats de sérotype 4 et "non sérotypable" qui proviennent de la trachée.

2.2. *Spectroscopie infrarouge*

La comparaison des isolats via un dendrogramme avec un seuil de coupure fixé à 0,200 met en évidence 5 clusters différents (surlignés en orange dans la Figure 1) dont le principal regroupe 23 isolats. Celui-ci est constitué des isolats provenant de 14 élevages. Les isolats au sein de ce cluster principal proviennent à 78% (18/23) de l'appareil respiratoire et certains isolats "respiratoires" ont une proximité très importante avec des isolats "articulaires" issus d'un même élevage ou d'élevages différents.
Les 4 autres clusters comprennent beaucoup moins d'isolats, entre 2 et 5.
Enfin certains isolats de sérotype 1 et un isolat "non sérotypable" apparaissent unitairement.

2.3. *Description de quelques cas cliniques*

Cas N°1
Dans **l'élevage N**, 3 isolats ont été mis en évidence sur 3 organes différents lors d'une même autopsie : poumon (isolat 34443), sac aérien (isolat 34445) et articulaire (isolat 34444). Malgré un traitement de première intention à base de Doxycycline, les symptômes de boiterie et les lésions de ténosynovite se sont aggravés. Les 3 isolats appartiennent au sérotype 1 et sont sous-typés en IR dans 3 clusters

différents (clusters 22, 70 et 62, (positionnement des isolats dans le dendrogramme Figure1). Différents isolats semblent ainsi infecter de façon contemporaine des dindes d'un même lot. L'antibiotypie de l'isolat articulaire, obtenue postérieurement à la mise en place du premier antibiotique, est différente de celle des isolats respiratoires expliquant l'échec du premier traitement.

Cas N° 2

Dans **l'élevage A**, comme pour le N°1 précédent, 3 isolats prélevés sur 3 organes différents lors d'une même autopsie ont été comparés : poumon (isolat 33991), trachée (isolat 33990) et articulation (isolat 33992). Ces 3 isolats appartiennent au sérotype 1 et sont regroupés en IR au sein du cluster 70 (positionnement des isolats dans le dendrogramme Figure1), ce qui laisse penser que des isolats semblables peuvent avoir plusieurs tropismes. Face à la gravité de la clinique le jour de l'analyse, un traitement à base de la Tylosine a été mis en place en première intention. Mais contrairement au N°1 (élevage N), le profil des antibiogrammes des isolats respiratoires et articulaires obtenus ultérieurement sont identiques avec une sensibilité intermédiaire à la Tylosine, ce qui explique une nécessité d'un recours à un second traitement avec une autre molécule.

Cas N° 3

Dans **l'élevage C**, 3 isolats ont été obtenus à la suite de prélèvements sur des lots de dinde non contemporains (espacés de 8 mois). L'isolat 33103 provient de la trachée (août 2020), l'isolat 35068 d'une articulation (avril 2021) et l'isolat 35069 de sacs aériens (avril 2021). Ces 3 isolats appartiennent au sérotype 1 et sont regroupés en IR au sein du cluster 70 (positionnement des isolats dans le dendrogramme Figure1).

3. DISCUSSION

Les spectres IR qui couvrent la région polysaccharidique sont particulièrement intéressants chez les bactéries car les glucides sont présents dans de nombreuses molécules comme les capsules, glycoprotéines et lipopolysaccharides (LPS). Cette technique peut discriminer les isolats en explorant les différences des polysaccharides de surface, constitutifs du phénotype des bactéries, ce que ne savent faire d'autres techniques notamment basées sur l'analyse génétique qui ne concerne jamais les molécules exprimées.

Concernant l'interprétation des données de l'IR, il n'existe pas de seuil de coupure (cut-off) unique et approprié pour toutes les espèces bactériennes. Des travaux récents de 2019 et 2021 (Martak *et al.,* Hu *et al.)* conviennent qu'il est difficile de fixer un cut-off. Cependant ces études avec des bacilles à Gram négatif ont montré que la spectroscopie IR regroupait avec précision des isolats de plusieurs espèces - en considérant des cut-off respectifs de 0,221 ; 0,220 et 0,159 (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae*) - appartenant au même ST (Sequence Type) défini par MLST (MultiLocus Sequence Typing) qui est aujourd'hui utilisé pour comparer des souches bactériennes extrêmement proches. Hu *et al.* précisent que l'IR présente un pouvoir de discrimination supérieur à la MLST et comparable avec le Whole-Genome Sequencing (*Klebsiella pneumoniae)*, ce qui constitue un outil puissant de sous-typage des isolats d'une même espèce.

Le cut-off retenu dans notre étude (0,200) se situe dans la gamme des seuils appliqués pour des bactéries à Gram négatif et doit par conséquent permettre aussi une comparaison pertinente chez ORT. La caractérisation IR des 41 isolats a fait émerger une communauté provenant de différents élevages et de différents organes - respiratoires ou articulaires - et appartenant à plusieurs sérotypes (1, 4 et "non sérotypable"). La spectroscopie IR réalise un sous-typage au sein du sérotype 1 qui représente la majorité des bactéries rencontrées en France dans les cas cliniques. Ce sous-typage du sérotype 1 pouvant s'expliquer par l'utilisation d'un antisérum polyclonal capable de reconnaître des motifs antigéniques très variés. Une telle distinction intra-sérotype peut aider à la compréhension des cas cliniques rencontrés sur le terrain.

L'IR a ainsi permis de montrer, dans le cas N°1, une diversité d'isolats infectant les dindes d'un même lot en corrélation avec différents profils de sensibilité aux antibiotiques. Dans le cas N°2, les 3 isolats issus de différents organes ne sont pas discriminables par l'IR ce qui suggère qu'un unique isolat est capable de provoquer à la fois des lésions respiratoires et articulaires. Pour le cas N°3, l'IR ne révèle pas de différences et soutient l'hypothèse de la récurrence d'un isolat au sein d'un élevage, démontrant l'importance d'une gestion globale des infections respiratoires (biosécurité, ventilation, vaccination contre l'ensemble des pathogènes respiratoires).

La facilité d'utilisation et le délai de réalisation très court rendent la spectroscopie IR adaptée à la routine du laboratoire en comparaison de techniques beaucoup plus lourdes et coûteuses comme la MLST.

CONCLUSION

Pour le vétérinaire praticien, le recours à la comparaison des isolats cliniques d'ORT par

sérotypage et spectroscopie infrarouge, permet de comprendre les problématiques du terrain et la pathologie à ORT. L'IR est un outil innovant d'exploration de la diversité phénotypique, pouvant expliquer certains échecs thérapeutiques et aider le vétérinaire à prendre les mesures nécessaires de gestion préventive des infections.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Charlton BR, Channing-Santiago SE, Bickford AA, Cardona CJ, Chin RP, Cooper GL, Droual R, Jeffrey JS, Meteyer CU, Shivaprasad HL, Walker RL (1993). Preliminary characterization of a pleomorphic Gram-negative rod associated with avian respiratory disease. J Vet Diagn Invest. Jan;5(1):47-51

Van Empel P, van den Bosch H, Loeffen P and Storm P (1997). Identification and serotyping of *Ornithobacterium rhinotracheale*. J Clin Microbiol. Feb;35(2):418-421

Hafez HM, Sting R (1999). Investigations on different *Ornithobacterium rhinotracheale* "ORT" isolates. Avian Dis. Jan-Mar;43(1):1-7

Hu Y, Zhou H, Lu J, Sun Q, Liu C, Zeng Y and Zhang R (2021). Evaluation of the IR Biotyper for *Klebsiella pneumoniae* typing and its potentials in hospital hygiene management. Microbial biotechnology, 14(4), 134

Martak D, Valot B, Sauget M, Cholley P, Thouverez M, Bertrand X and Hocquet D (2019). Fourier-Transform InfraRed Spectroscopy Can Quickly Type Gram-Negative Bacilli Responsible for Hospital Outbreaks. Front. Microbiol. 10:1440

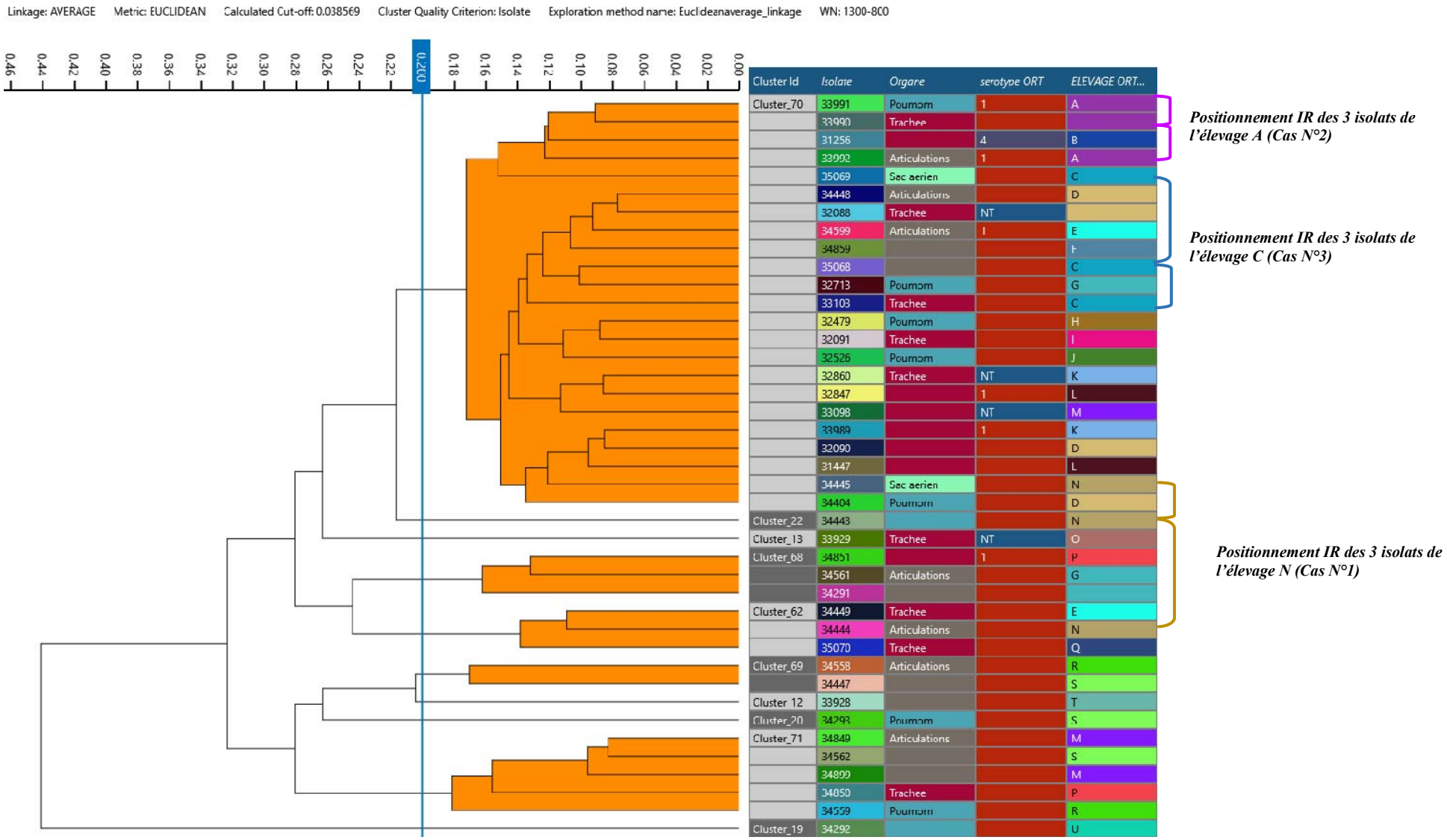


Figure 1 : Dendrogramme des 41 isolats d'*Ornithobacterium rhinotracheale* obtenu par spectroscopie infrarouge

IMPACT DU MICROBIOTE INTESTINAL ET DE SES METABOLITES SUR LE DEVELOPPEMENT ET LA MATURATION DU SYSTEME IMMUNITAIRE INNE

Saint-Martin Vincent, Guillory Vanaique, Trapp Sascha, Quéré Pascale, Guabiraba Rodrigo

INRA, UMR ISP, Université de Tours, Nouzilly, France

vincent.saint-martin@inrae.fr

RÉSUMÉ

Le microbiote intestinal (MI) est essentiel au maintien de l'homéostasie intestinale, à la maturation du système immunitaire et à la résistance aux agents pathogènes. Le MI favorise et détermine de nombreux aspects du développement du système immunitaire inné via la production de métabolites, comme les acides gras à chaine courte (AGCC). De nouvelles données expérimentales chez la souris soulignent l'existence d'un dialogue entre le MI et les poumons, appelé « axe intestin-poumon », qui s'avère crucial dans l'immunité des muqueuses. Plusieurs composants et métabolites dérivés du MI, tels que les AGCC, se sont révélés des médiateurs essentiels qui régulent le fonctionnement du système immunitaire inné périphérique. Néanmoins, l'axe intestin-poumon est un concept qui reste inexploré chez le poulet, chez qui les agents pathogènes responsables des maladies aviaires les plus importantes sur le plan économique ciblent les tractus respiratoire et digestif. Afin de démontrer cette hypothèse nous avons exploré les effets d'un AGCC (butyrate) sur un modèle cellulaire original de cellule épithéliale de poumon de poulet. Nos résultats mettent en évidence une forte augmentation de l'expression d'*OASL,* un gène clé de l'immunité antivirale, par le butyrate à une concentration physiologique. Ce même métabolite potentialise la réponse immunitaire médiée par les interférons de type I (IFN-I) et par un agoniste TLR3. En parallèle, nous nous sommes intéressés à l'impact plus global de l'absence de microbiote sur le système immunitaire de l'animal. Pour cela, nous avons prélevé différents organes le long de l'axe intestin-poumon sur des poulets conventionnels (microbiote « normal ») et axéniques (sans microbiote). Nos premières données indiquent qu'il n'existe pas de différence entre le nombre et le phénotype des leucocytes de rates d'animaux conventionnels ou axéniques. Ces travaux ouvriront la porte à des nouvelles pratiques d'élevage et au développement de probiotiques dont le rôle serait de favoriser un développement précoce et favorable du microbiote et du système immunitaire.

ABSTRACT

Understanding the contribution of the gut microbiota and its metabolites to the development and functioning of the innate peripheral immune system

The gut microbiota (GM) plays a critical role in the maintenance of intestinal homeostasis, immune system maturation and resistance to pathogens. The GM favors and calibrate many aspects of the innate immune system's maturation and functioning through the production of metabolites such as Short Chain Fatty Acids (SCFA). In mice, recent data highlight the existence of a dialog between the GM and the respiratory tract, referred to as the « gut-lung axis », which proves to be crucial to mucosal immunity. Various components and metabolites derived from the GM, such as SCFA, are essential mediators that regulate peripheral innate immune system functions. However, the gut-lung axis remains an unexplored concept in the chicken, where the most important avian diseases are caused by pathogens targeting both respiratory and digestive tracts. In order to test this hypothesis, we explored the effect of butyrate using an original model of chicken lung epithelial cell line. We have highlighted that this metabolite, in physiological concentrations, highly increases the expression of *OASL*, a gene strongly involved in antiviral immunity. This metabolite also potentiates the immune responses associated with type I interferons (IFN-I) and TLR3 agonist stimulation. In parallel, we explored the global impact of the absence of microbiota on the immune system of the animal. In order to do that, we collected various samples along the gut lung axis on conventional (« normal » microbiota) and germ-free (microbiota-free) chickens. Our data show that there is no difference in leucocytes number or phenotypes in the spleen of conventional compared to germ-free chickens Altogether, these results will open the door to new husbandry practices and will help developing probiotics to which the main role will be to favor an early development of the microbiota and the immune system.

INTRODUCTION

D'ici à 2050, la population mondiale devrait atteindre 9 milliards d'habitants et ainsi conduire à une multiplication par deux de la demande en protéines animales. Approvisionner la population tout en respectant l'équilibre entre le bien-être animal, la qualité des produits et la sécurité pour les consommateurs est une priorité pour les Nations Unies (Martin, 2021). Les méthodes modernes d'élevage avicole favorisent la sélection de traits génétiques liés à une meilleure performance du produit (croissance plus rapide, meilleur rendement de ponte). Cependant, cette sélection peut se faire au détriment d'autres caractéristiques essentielles pour l'animal, comme l'installation correcte de son microbiote intestinal. Le microbiote intestinal (MI) est un carrefour qui intègre des signaux provenant de l'environnement, de la génétique ou du système immunitaire et qui modèle le métabolisme et la compétence immunitaire de son hôte (Broom and Kogut, 2018). La rupture de l'équilibre entre l'hôte et son microbiote conduit *in fine* à l'apparition de maladies (inflammatoires, auto immunes ou infectieuses). L'ensemble de ces fonctions se fait via la production de métabolites par les bactéries commensales du tractus intestinal. Il a été démontré par exemple que le taux de myélopoïèse est corrélé à la quantité de métabolites, notamment des Acides Gras a Courtes Chaines (AGCC), retrouvé dans ce tissu (Thaiss et al., 2016). Ces mêmes molécules vont également avoir un impact sur les cellules résidentes dans l'intestin et d'autres organes périphériques, tels que les macrophages (Chang et al., 2014). De façon plus générale concernant le système immunitaire, il a récemment été démontré l'existence d'un dialogue à deux sens entre l'intestin et ses métabolites et les différents organes périphériques. C'est ainsi qu'est né le concept « d'axe intestin-poumon » qui explique que les AGCC produits au niveau intestinal ont un impact direct sur les cellules immunitaires présentes dans les poumons et qu'un défaut d'équilibre du microbiote intestinal entrainera fatalement une plus grande susceptibilité pour les maladies respiratoires (Dang and Marsland, 2019). Toutes ces observations ont été réalisées chez les mammifères mais aucune étude ne concerne les animaux d'élevage, tel que le poulet. Dans ce contexte global, notre objectif principal est donc d'apporter de nouvelles informations quant à l'existence d'un axe intestin-poumon fonctionnel chez le poulet.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Culture des cellules épithéliales pulmonaires

Les cellules épithéliales pulmonaires aviaires immortalisées (cLEC 213) sont cultivées en DMEM-F12 contenant 2 mM de L-glutamine, 15 mM d'HEPES, 10 % (v/v) de sérum de veau fœtal (SVF) décomplementé, 100 U/ml de streptomycine et 100 µg/ml pénicilline (Esnault et al., 2011).

1.2. Tests des effets du butyrate in vitro

Afin de mettre en évidence de potentiels effets du butyrate sur l'épithélium respiratoire, 4.10^5 cellules sont ensemencées en plaque 12 puits pendant 24h à 41°C. Le lendemain, le milieu est retiré et remplacé par une solution de butyrate (3mM) préalablement préparée. Les cellules sont ainsi pré-incubées sur toute la nuit (16h) puis stimulées par un agoniste de TLR3 (Poly I:C) ou un IFN de type I (IFNα) pendant 6h.

1.3. PCR quantitative

Après lyse des cellules et extraction des ARNs totaux à l'aide du RNA Plus Extraction kit (suivant les recommandations du fournisseur), la quantité d'acides nucléiques de chaque échantillon est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (NanoDrop). Ensuite, une étape de transcription inverse réalisée sur 500ng d'ARN permet d'obtenir des ADNc correspondants.
La PCR quantitative permet l'amplification ciblée de différents gènes grâce à l'utilisation des paires d'amorces suivantes :
OASL : CTTCGGAGTCAGCATCACCA/ TCCTGAATCACCTGCCCCAG
HPRT1 : TGGTGGGGATGACCTCTCAA/ GGCCGATATCCCACACTTCG
MX1 : ACGTCCCAGACCTGACACTA/ TTTAGTGAGGACCCCAAGCG
CXCLi2 : CTGCGGTGCCAGTGCATTAG/ AGCACACCTCTCTTCCATCC
IFNB : TCCTGCAACCATCTTCGTCA/ CACGTCTTGTTGTGGGCAAG
Afin de révéler la présence d'ADNc amplifié, le mix de PCR contient du SYBR green qui fluoresce lorsqu'il s'intercale non spécifiquement entre 2 bases. Chaque échantillon est déposé en duplicata sur la plaque 96 puits. Les résultats sont obtenus sous forme de Ct puis l'expression relative de chaque gène est calculée par rapport à notre gène de ménage (HPRT) grâce à la méthode des $-\Delta\Delta Ct$ (Livak and Schmittgen, 2001).

1.5. Impact du microbiote chez une lignée de poule pondeuse (White Leghorn)

Pour pouvoir répondre à cette problématique, nous avons eu recours à la lignée consanguine de poule pondeuse Leghorn blanche elevée en condition conventionnelles (holoxénique) ou exempte de tout microbiote (axénique) à la Plateforme d'Infectiologie Expérimentale (INRAE PFIE, Nouzilly). A trois âges différents (7, 14 et 21 jours), 7 animaux conventionnels et 7 animaux axéniques sont sacrifiés et leurs organes sont récupérés puis congelés en azote

liquide. Les rates, poumons, foies, iléums, caeca et 80°C. L'impact du microbiote sur le système immunitaire périphérique est en premier lieu observé par l'immunophénotypage des différentes populations de splénocytes retrouvées dans nos 2 conditions. Afin d'isoler les splénocytes, les rates sont tout d'abord broyées dans un tamis cellulaire de 40 µm puis déposés délicatement sur un coussin d'Histopaque. Après centrifugation douce, les cellules d'intérêt sont concentrées sous forme d'un disque trouble que l'on peut récupérer à l'aide d'une pipette. La dernière étape consiste à laver les cellules dans un grand volume de PBS stérile puis de centrifuger rapidement. Le culot obtenu est ensuite repris en milieu de culture cellulaire RPMI. La quantité et la viabilité des splénocytes est mesurée grâce à un lecteur de plaque automatique (Tecan Spark), après coloration au bleu trypan. Ces cellules sont ensuite marquées grâce à différents cocktails d'anticorps. Les cibles choisies permettent de mettre en évidence les différentes populations de lymphocytes par la détection de leur marqueur de surface (CD4 ou CD8α). Les cellules marquées sont ensuites passées au cytomètre en flux (BD Calibur) puis les résultats sont analysés grâce au logiciel FlowJo.

1.6. RNAseq

Les profils transcriptomiques des caeca de poulet à 21 jours d'âge ont été obtenus par méthode RNAseq. Les ARN totaux ont été extraits grâce au même protocole qu'au paragraphe 1.2. La qualité des échantillons a ensuite été estimée en utilisant le kit RNA Nano 6000 Assay (Agilent Technologies, CA, USA) sur le système Bioanalyser 2100. La librairie a été préparée à l'aide du kit NEBNext® Ultra™ II RNA Library Prep Kit pour Illumina®. Les données brutes ont été analysées via le logiciel TrimGalore puis les gènes différentiellement exprimés calculés via le logiciel DESeq (v1.30.0)(Love et al., 2014).

1.7. Analyses statistiques

Un test One-way ANOVA paramétrique, suivi d'un test de comparaisons multiples de Tukey a été utilisé afin de réaliser une étude statistique (logiciel GraphPad Prism 7.0). Une valeur de P inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative. Les différences entre les groupes sont représentées par des astérisques : *: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,01$, ***: $p \leq 0,001$ et ****: $p \leq 0,0001$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La première partie de l'étude concerne donc l'étude *in vitro* des effets immunostimulants des principaux AGCC du microbiote intestinal (acétate, butyrate et propionate). Afin de mettre en évidence ces effets, notre stratégie a été de les tester sur plusieurs lignées cellulaires aviaires originales. Nous avons donc commencé par étudier la réponse d'une lignée de macrophages aviaires immortalisés nommée HD11. Ces résultats ne sont pas présentés ici puisqu'aucun effet n'a pu être observé. En revanche, une incubation de notre lignée épithéliale pulmonaire avec du butyrate entraine une augmentation dans l'expression de différents gènes liés à l'immunité innée. C'est notamment le cas pour *OASL,* qui code pour une protéine à fonctions antivirales, dont l'expression est 18 fois plus importante lorsque les cellules sont incubées 16h avec 3mM de butyrate. Cet effet est moins puissant à une dose de 0,3mM et disparait lorsque la concentration diminue encore. Inversement, ce phénomène est accentué par une dose plus forte (10 mM) (figure 1A). A des degrés plus faibles, d'autres gènes voient également leur expression augmentée en présence de 3mM de butyrate, comme *CXCLi2,* qui code l'IL-8, une des principales chimiokines à activité pro-inflammatoire. En outre, le butyrate peut également potentialiser les effets de certains immunostimulateurs comme le Poly I:C (agoniste de TLR3, un récepteur reconnaissant des virus) ou l'IFNα (interféron de type I, possédant une forte activité antivirale) (figure 1B). Ceci est particulièrement visible pour des gènes comme *CXCLi2,* dont l'expression est multipliée par 12 entre une stimulation seule par le Poly I:C et une pré incubation avec le butyrate suivie par la même stimulation. C'est aussi le cas, dans une moindre mesure, pour *OASL*, pour lequel l'expression est multipliée par 3,5. La protéine OASL est un membre très bien caractérisé de la famille des Interferon Stimulated Genes (ISGs). Son mécanisme d'action repose sur sa capacité à se lier avec l'ARN viral double brin afin d'activer la RNAseL aboutissant ainsi à la dégradation du matériel génétique (Choi et al., 2015). Dans ce contexte, il s'agira maintenant de comprendre comment le butyrate entrainerait la surexpression d'*OASL*, grâce à une étude approfondie des différentes voies de signalisation impliquées dans ces mécanismes via l'immunomarquage. En parallèle, nous aimerions également savoir si cette surexpression a un impact sur l'activité antivirale des cellules infectées par une souche d'Influenza aviaire à potentiel zoonotique H7N1. La seconde partie de ce travail cherche à mieux comprendre le rôle systémique du microbiote intestinal chez le poulet. Il repose sur la comparaison entre des organes collectés tout le long de l'axe intestin-poumon provenant d'animaux conventionnels ou de notre lignée axénique âgés de 7, 14 et 21 jours. Dans un premier temps nous nous sommes attachés à caractériser les populations composant les splénocytes, la rate étant l'un des principaux organes lymphoïdes secondaires. En termes de quantité et de sérums sont ainsi récupérés et conservés à -

viabilité cellulaire, aucune différence n'est à noter entre les deux conditions, pour les 3 âges testés (figure 2A). Nos résultats d'immunophénotypage prouvent qu'il n'y a également pas de changement dans les proportions de cellules immunitaires qui composent larate. Nous pouvons par exemple citer les lymphocytes T, dont le marquage des récepteurs de surface (CD4 et CD8α) révèle des quantité similaires (figure 2B) Il est néanmoins intéressant de noter que la quantité de cellules T CD8 est croissante entre J7 et J21. En parallèle de cette expérimentation, nous avons également cherché à obtenir les profils transcriptomiques des caeca de nos poulets conventionnels et axéniques par la méthode de RNAseq. Après que les données ont été nettoyées et analysées grâce aux outils bio-informatiques, nous avons pu mettre en évidence que plusieurs gènes étaient fortement sous exprimés chez les animaux sans microbiote. C'est notamment le cas du gène codant le récepteur soluble de l'IL22, *IL22RA2* ou de celui codant la métalloprotéase matricielle 1, *MMP1* (figure 3). Il est intéressant de noter que ces deux protéines sont généralement impliquées dans des mécanismes de maintien de la barrière épithéliale et de cicatrisation (Yu et al., 2016). Dans une moindre mesure, on retrouve d'autres gènes sous exprimés et liés à l'immunité antivirale comme *OASL* ou *SOCS3.* Afin de poursuivre cette étude du rôle du microbiote intestinal sur l'immunité systémique, nous devons maintenant procéder aux mêmes travaux mais en s'intéressant cette fois ci aux prélèvements de poumons et de rate. De cette façon, nous aurons une idée plus précise du fonctionnement de l'axe intestin-poumon chez le poulet, qui n'est, à l'heure actuelle, pas encore été décrit. A terme, l'objectif serait de permettre la mise au point de différents compléments alimentaires, tels que des postbiotiques (ex : butyrate) ou des probiotiques. Plus généralement, ces travaux vont aider à mieux définir ce qu'est un microbiote « bénéfique » chez le poulet.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Broom, L.J., Kogut, M.H., 2018. T. Vet. Immunol. Immunopathol. 204, 44–51.
Choi, U.Y., Kang, J.-S., Hwang, Y.S., Kim, Y.-J., 2015. Exp. Mol. Med. 47, e144–e144.
Dang, A.T., Marsland, B.J., 2019. Mucosal Immunol. 12, 843–850.
Esnault, E., Bonsergent, C., Larcher, T., Bed'hom, B., Vautherot, J.-F., Delaleu, B., Guigand, L., Soubieux, D., Marc, D., Quéré, P., 2011. Virus Res. 159, 32–42.
Livak K.J., Shmittgen, D., 2001. Methods. 402-408
Love, M., Huber, W., Anders, S., 2014. Genome Biol. 550
Martin, n.d. Goal 2: Zero Hunger. U. N. Sustain. Dev.
Yu, R., Ding, Y., Zhu, L., Qu, Y., Zhang, C., Liu, L., Chen, L., 2016. s. Arch. Oral Biol. 72, 14–20

Figure 1 : Taux d'expression de différents gènes liés à l'immunité innée suite à une incubation avec du butyrate pendant 16h, mesuré par PCR quantitative. En A) l'effet du butyrate à plusieurs concentrations sur l'expression de OASL et l'effet du butyrate à 3mM sur différents gènes cibles ayant un rôle anti viral ou pro inflammatoire. N=3. En B) l'effet du butyrate à 3mM lorsque les cellules sont ensuite stimulées par du Poly I:C (10µg/mL) ou de l'IFNα (50ng/mL) N=2

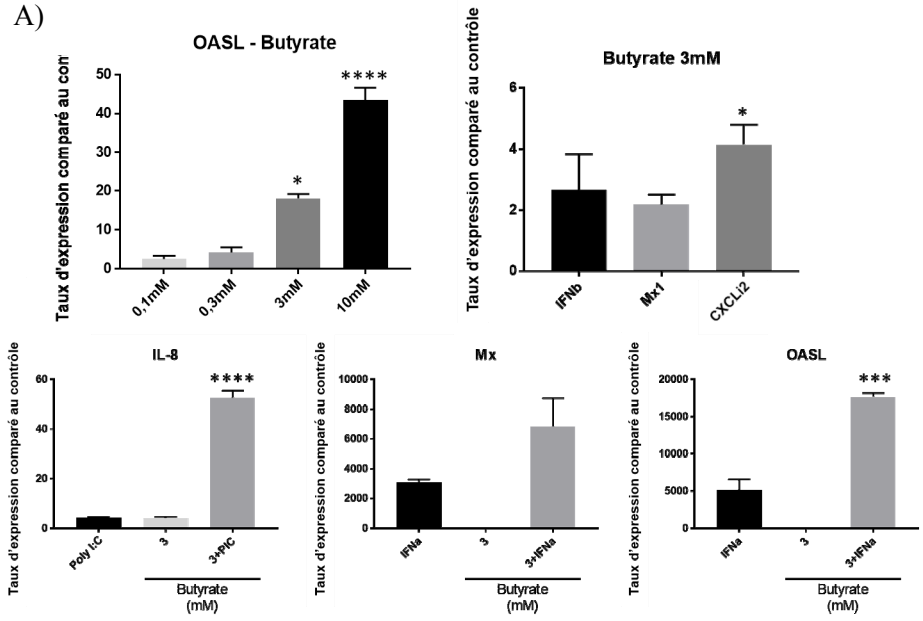


Figure 2 : Comparaison qualitative et quantitative des splénocytes entre les poulets conventionnels et axéniques à J7, J14 et J21. En A) le nombre et la viabilité des cellules obtenus grâce au lecteur de plaque Spark® Cyto. En B) la proportion de lymphocytes CD8α ou CD4 positifs obtenus après marquage par des anticorps spécifiques puis révélés par cytométrie en flux (BD Calibur)

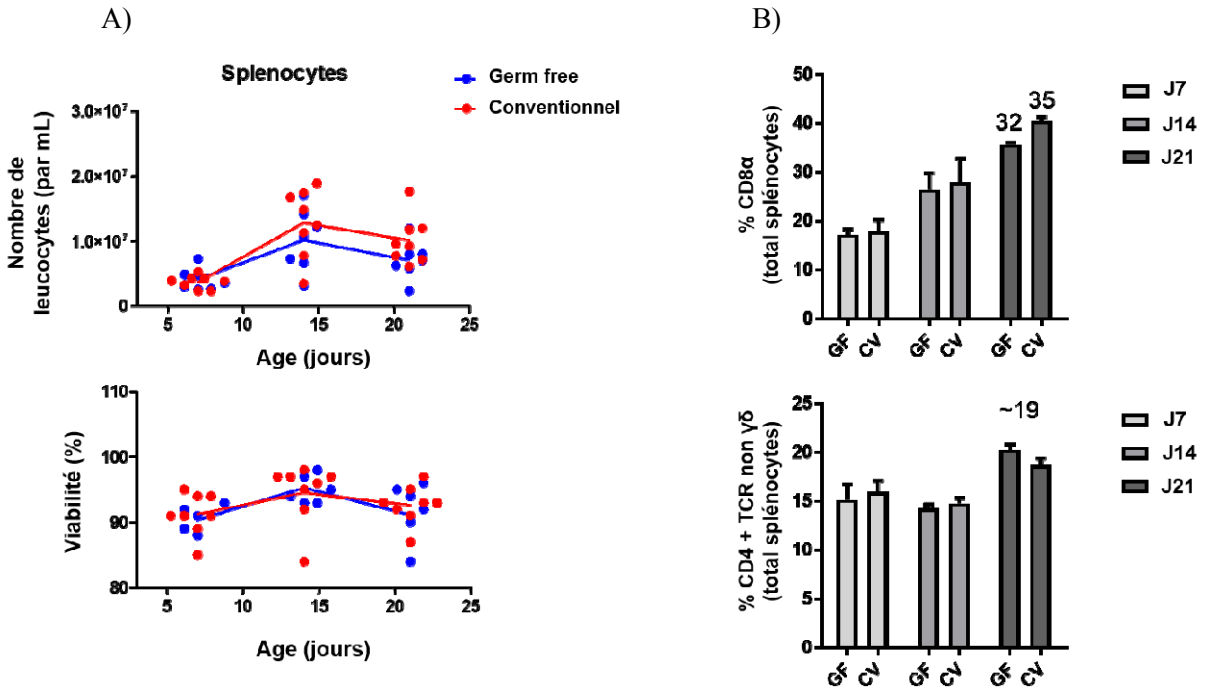
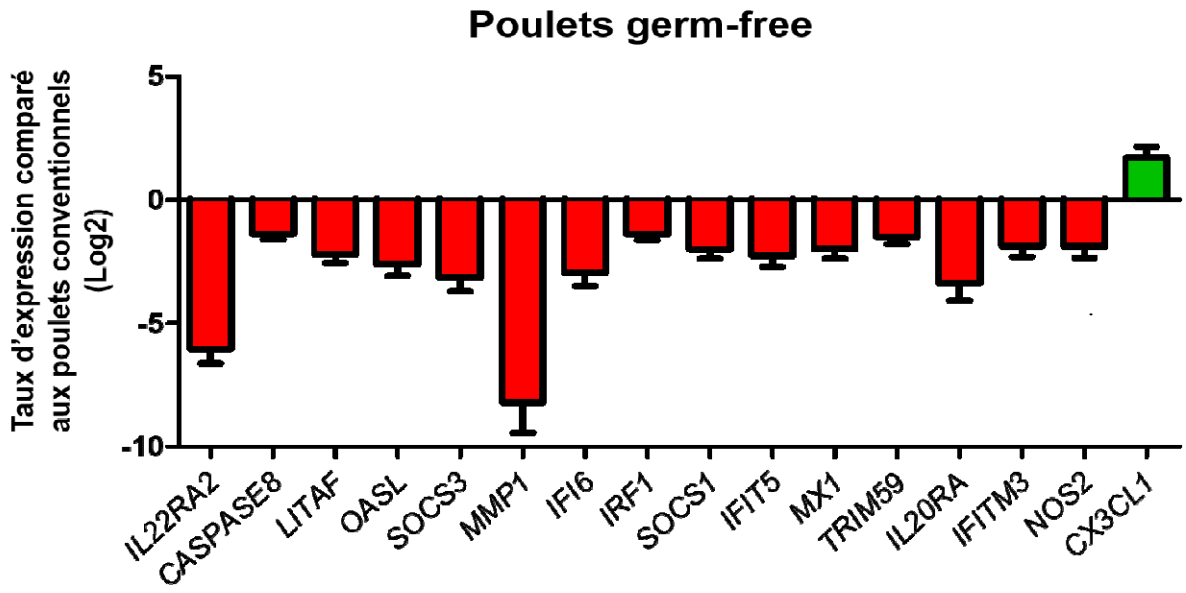


Figure 3 : Profil transcriptomique obtenus à partir d'ARN totaux extraits des caecas de poulets axéniques comparé aux poulets conventionnels. En rouge les gènes les plus sous exprimés et en vert ceux sur-exprimés



DEVELOPPEMENT DE MESURES AUTOMATISEES D'INDICATEURS SONORES POUR LA DETECTION PRECOCE DE TROUBLES RESPIRATOIRES CHEZ LES VOLAILLES : CAS DE LA BRONCHITE INFECTIEUSE

Créach Pauline[1], Pajusco Nicolas[2], Brouard Bruno[2], Simon Laurent[2], Riou Mickaël[3], El Jabri Mohammed[4], Doutart Elodie[4], Ayoub Khoumane[4], Travel Angélique[1]

[1]ITAVI – 7, rue du Faubourg Poissonnière – 75009 Paris
[2] Laboratoire d'Acoustique de l'Université du Mans (LAUM), UMR 6613, Institut d'Acoustique - Graduate School (IA-GS), CNRS, Le Mans Université, France
[3]INRAE, UE-1277 PFIE, Centre Val de Loire, 37380 Nouzilly
[4]IDELE, 149, rue de Bercy, 75012 Paris

creach@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Les vocalisations produites par les volailles apportent des informations sur leur santé et leur bien-être (vocalisation de stress ou de confort par exemple). Ces informations, complémentaires à celles fournies par l'éleveur, peuvent permettre une détection plus précoce de l'apparition d'une pathologie. A ce jour aucune solution d'analyse acoustique n'est commercialisée pour cet usage en élevage. Cette technologie permettrait d'avertir l'éleveur en cas de dépassement de critères d'alerte de façon à prendre immédiatement des mesures correctives adaptées et ainsi limiter l'aggravation du problème. L'objectif de ce travail est d'évaluer la faisabilité de détecter automatiquement des symptômes de la Bronchite Infectieuse (éternuement et râles) chez les volailles. Un second objectif est d'identifier un ou plusieurs indicateurs acoustiques permettant de détecter précocement la mise en place de ce virus. La première étape de cette étude a consisté à collecter des bandes sonores en conditions expérimentales contrôlées sur des groupes de poulets de chair ROSS 308 infectés (essai ; n=30) et non infectés (témoin ; n=30) par la bronchite infectieuse. Une première étape d'écoute par un groupe d'expert a permis de détecter et d'isoler des râles et des éternuements, permettant ainsi de les caractériser à l'aide de descripteurs acoustiques. Ensuite, un algorithme a été développé pour détecter et isoler automatiquement et spécifiquement ces symptômes sur le groupe essai. La deuxième étape de ce travail a permis de différencier le groupe de poulets sains du groupe de poulets malades au regard de l'évolution temporelle du niveau sonore relatif. Trois jours post-inoculation, une différence de 3 décibels est observée en période de nuit entre les groupes (+3 dB pour le groupe infecté ; intensité sonore multiplié par 2). Ce travail permet de mettre en évidence l'intérêt de l'analyse acoustique pour la détection précoce de pathologies chez le poulet de chair. Il devra se poursuivre avec des essais en conditions terrain.

ABSTRACT

Development of automated measurements of sound indicators for the early detection of health disorders in poultry:
the case of Infectious Bronchitis

The vocalisations produced by poultry provide information on their health and well-being (e.g. stress or comfort vocalisations). This information, complementary to that of the breeder, can allow earlier detection of the appearance of a pathology and to date no acoustic analysis solution is marketed for this use in breeding. This technology would allow the farmer to be warned when alert criteria are exceeded so that appropriate corrective measures can be taken immediately, thereby limiting the aggravation of the problem. The objective of this work is to evaluate the feasibility of automatically detecting symptoms of Infectious Bronchitis (sneezing and rales) in poultry. A second objective is to identify one or more acoustic indicators for early detection of the establishment of this virus. The first step in this study was to collect soundtracks under controlled experimental conditions from groups of ROSS 308 broilers infected (trial; n=30) and uninfected (control; n=30) with infectious bronchitis (IBV, avian coronavirus). A first stage of listening by a group of experts allowed the detection and isolation of rales and sneezes, thus allowing them to be characterised using acoustic descriptors. An algorithm was then developed to automatically and specifically detect and isolate these symptoms on the test group. The second step of this work was to differentiate the healthy group from the sick group based on the temporal evolution of the relative noise level. Three days post-inoculation, a difference of 3 decibels was observed at night between the groups (+3 dB for the infected group; sound intensity multiplied by 2). This work highlights the value of acoustic analysis for the early detection of pathologies in broilers. It should be continued with trials in field conditions.

INTRODUCTION

La détection précoce et le diagnostic rapide sont des leviers indispensables pour limiter la propagation et donc l'impact des maladies en élevage. Plusieurs démarches étudient la possibilité d'utiliser les données collectées en élevage de volailles, couplées ou non à des technologies, telles que des caméras ou des microphones par exemple (Astill *et al.*, 2020). Ces outils peuvent permettre d'évaluer et de rendre compte du bien-être et de la santé des animaux en élevage. Les avantages de ces technologies sont la collecte de données 1/ en temps réel, sans perturber les animaux puisque qu'ils sont non-invasifs, 2/ de manière plus objective et 3/ moins chronophage que les méthodes réalisées traditionnellement par un observateur humain. Ainsi, utiliser l'analyse d'image ou du son permet d'identifier un problème (sanitaire ou de bien-être) de façon plus précoce pour agir plus rapidement et limiter la propagation de la pathologie à l'ensemble du lot de volaille et ainsi réduire les coûts directs et indirects associés (limiter l'usage des antibiotiques, les chutes de croissance et les mortalités d'animaux par exemple). De plus, la demande sociétale pour un élevage respectueux du bien-être animal et pour plus de transparence sur les pratiques pousse les filières à travailler sur des solutions de ce type, permettant de prouver que les oiseaux sont correctement élevés, tout au long de leur période d'élevage (Créach *et al.*, 2019).

Les vocalisations produites par les volailles tout au long de leur vie jouent un rôle dans la communication entre les animaux et certaines d'entre elles peuvent refléter l'état dans lequel se trouvent les volailles (vocalisation de détresse, de confort, de peur, par exemple - Dawkins, 1998 ; Michaud *et al.*, 2019). Ces vocalisations qui peuvent même être émises quelques heures avant l'éclosion, sont bien distinctes du chant, qui apparaît plus tard dans la vie de la volaille (Wood-Gush, 1971). D'autres types de sons peuvent être émis par les volailles en cas de pathologie et traduisent donc directement l'état de santé de l'animal, comme les râles et les éternuements. Ces symptômes respiratoires peuvent être entendus et reconnus à l'oreille humaine mais lorsque la maladie est déjà bien installée. Les agents pathogènes du système respiratoire des poulets peuvent être des virus (maladie de Newcastle, Bronchite Infectieuse (IBV, coronavirus aviaire) par exemple), des bactéries (*Mycoplasma s.p.p., Bordetella s.p.p.* par exemple) ou des champignons (*Aspergillus s.p.p.*) (Dal Pozzo F., 2019). Récemment des systèmes d'analyse acoustique ont été développés pour la détection de maladies respiratoires chez les porcs (Chedad *et al.*, 2001 ; Chung *et al.*, 2013) et les veaux de boucherie (Carpentier *et al.*, 2018 ; Vandermeulen *et al.*, 2016). En volailles, l'analyse acoustique pour la détection des symptômes respiratoires a aussi été étudiée (Carroll *et al.*, 2014 ; Rizwan *et al.*, 2017 ; Banakar *et al.*, 2016). En dehors de Carpentier *et al.* (2019), qui a travaillé sur un groupe de 500 poulets mais uniquement sur la détection des éternuements, les articles précédemment listés concernent des essais conduits sur de petits groupes d'animaux ou des volailles prises individuellement. Il a été montré que les faibles périodes d'activité, que sont les périodes nocturnes, sont plus propices à la surveillance de sons anormaux et éternuements en bâtiments avicoles (Du *et al.*, 2018 ; Carpentier *et al.*, 2019).

La Bronchite Infectieuse (BI) est un coronavirus qui provoque des problèmes respiratoires chez la poule et le poulet. Elle peut provoquer des mortalités embryonnaires, des coquilles déformées et une chute de ponte en poules pondeuses et des problèmes digestifs et de sous-performances en poulets de chair. C'est pourquoi nous avons choisi cette pathologie dans la présente étude pour l'inoculation des poulets en condition expérimentale. L'objectif du travail était 1/ d'identifier des différences entre les groupes infectés et non infectés 2/ de caractériser d'un point de vue acoustique, les symptômes respiratoires de la BI (éternuement et râle) chez les animaux malades et 3/ de développer un algorithme de détection automatique de ces symptômes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Design expérimental

Les essais ont été réalisés au sein de l'Unité Expérimentale UE-1277 Plateforme d'Infectiologie expérimentale (PFIE : https://doi.org/10.15454/1.5535888072272498e12) sur du poulet Ross 308 élevé jusque 35 jours (Figure 1). Deux salles ont été mis en place avec 30 poulets par salle : une salle témoin (T) avec des animaux non infectés et une salle BI avec les animaux inoculés avec la Bronchite Infectieuse. Les animaux de la salle BI ont été inoculés à J28 par voie naso-oculaire, soit avec PBS 1X stérile (lot témoin) soit avec 500 µL IBV à 1.105 EID50 avec une seringue de 1 mL (gCoV/chicken/Morocco/I38/ 2014). Les deux salles ont été conduites de la même manière. Les suivis virémiques effectués ont confirmé que l'inoculation a bien fonctionné sur tous les animaux 4 jours post inoculation (J32) et de manière systémique sur les tissus (décision de notification du CE : #18924-2019020411222196 v3).

Figure 1. Photos de l'installation avec les poussins



1.2. Enregistrement sonores

Pour chaque salle, 4 microphones omnidirectionnels 1/4" T.bone MM1 ont été installés à 46 cm du sol, pour être au plus proche des animaux sans leur être accessibles, et répartis uniformément dans l'espace au-dessus des poulets (Figure 1). Les signaux sont enregistrés en continu de J26 à la fin d'élevage à l'aide d'une interface audio 8 canaux Scarlett 18i20 Focusrite. En effet, avant J26 les animaux étaient ensemble avant d'être séparés en deux groupes. Les enregistrements ont été effectuées par période de 10 minutes au format .wav pour limiter la taille des fichiers. Le signal est débruité avec un algorithme de soustraction spectrale (Ephraim Y. et Malah D., 1984 ; Cappe O., 1994) notamment pour enlever le bruit de la ventilation. Ceci a nécessité un enregistrement préalable de ce bruit de ventilation isolé, d'environ 10 à 30 secondes. Le niveau sonore relatif a été calculé sur toute la durée d'élevage des animaux par tranche de 10 secondes, dans les 2 salles (jour et nuit) tel que $L = 20\,Log_{10}\,(\sigma/p_{ref})$ avec p_{ref} une pression de référence et σ la variance d'un échantillon sonore de 10 secondes.

1.3 Caractérisation des symptômes infectieux

Une base de données de 400 signaux sonores a été préalablement labellisée par 5 experts (vétérinaires et zootechniciens) à partir des bandes sonores de 10 minutes. Au total, 278 signaux ont été labellisés comme des éternuements et 122 comme des râles. Le Tableau 1 présente la liste d'indicateurs acoustiques descriptifs générés à partir des signaux sonores labellisées d'éternuement et de râle. Ces indicateurs retenus pour l'étude sont simples, complémentaires et couramment utilisés pour la description de signaux acoustiques (indicateur d'ordre 0, ordre 1 et 2). Les signaux labellisés ont été traités avec le logiciel R par la réalisation d'une Analyse en Composante Principale (ACP) intégrant les indicateurs acoustiques listés dans le Tableau 1. Cette analyse permet la description des deux symptômes.

Tableau 1. Liste des indicateurs acoustiques calculés

Indicateur	définition
Amplitude maximale	Valeur la plus importante du signal
Amplitude minimale	Valeur la moins importante
Amplitude moyenne	Moyenne du signal
Variance	Indicateur de dispersion des amplitudes autour de la moyenne
Ecart-type ou valeur efficace	Ecart-type du signal
Facteur de crête	Mesure de la dynamique du signal
Energie du signal	Force du signal
Skewness	Asymétrie du signal
Kurtosis	Aplatissement du signal
Etalement temporel	Bande temporelle où est concentrée l'essentiel de l'énergie
Temps moyen	Temps autour duquel est distribué l'énergie du signal
Etalement fréquentiel	Bande de fréquences où est concentrée l'essentiel de l'énergie du signal fréquentiel
Fréquence moyenne	Fréquence moyenne autour de laquelle le spectre est distribué

L'estimation de ces indicateurs a été implémenté sous le logiciel Python3.

1.4. Développement du modèle de prédiction de symptômes respiratoires

La création d'une base de données avec seulement les événements d'intérêt (*éternuement* et *râle*) n'est pas suffisante pour la mise en place d'un modèle de prédiction. Il existe une multitude d'événements sonores provenant des élevages de poulets. Pour cela, une deuxième base de données a été créée avec les mêmes experts. Outre l'*éternuement (n=271)* le *râle (n*=84), cette base contient également les classes *pépiement (n=106)* et *autre (n=66)*. Ces données présentent des évènements d'environ 1s. 60% de ces données ont été utilisées pour l'apprentissage et les 40% restants pour tester le modèle de prédiction.

Les signaux sonores utilisés dans cette base ont été transformés. Chaque signal est représenté par la moyenne de ses coefficients cepstraux de la fréquence du Mel (Zheng *et al.* 2001). Cette fréquence (échelle de Mel) vise à imiter la perception du son par l'oreille humaine et est importante dans l'établissement du modèle de prédiction basé sur l'apprentissage automatique. Le modèle d'apprentissage utilisé dans ce cas est celui d'un réseau de neurones (Perceptron Multicouches MLP). Il s'agit d'un algorithme dont le résultat espéré devrait prévoir aussi fidèlement que possible les 4 classes d'intérêt que nous voulons modéliser (Eternuement, Râle, Pépiement et Autre) en fonction des signaux sonores représentés par leurs coefficients cepstraux. Ce réseau est constitué d'une couche d'entrée (coefficients cepstraux), trois couches cachées et une couche de sortie qui représente la variable à prédire (les 4 classes). Les couches cachées vont servir d'intermédiaire pour modéliser la sortie en fonction des paramètres d'entrée. Leur intérêt est majeur car elles donnent plus de flexibilité au modèle pour qu'il s'ajuste au mieux aux entrées.

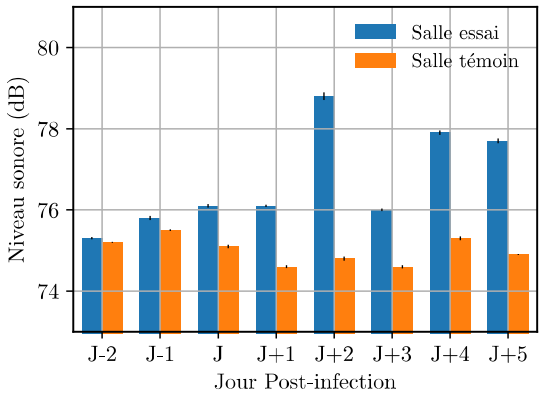
2. RESULTATS ET DISCUSSION

Un total de 2238 bandes son de 10 minutes ont été collectées sur la salle essai (BI) et 4263 bandes sur la salle témoin, soit respectivement 373 heures de vidéos et 710 heures de vidéos. Cette différence s'explique par le fait que les enregistrements de la salle essai (BI) n'ont pas été réalisés depuis le démarrage du lot mais ont démarré 2 jours avant l'inoculation des animaux (lors du transfert dans leur salle respective).

2.1. Suivi du niveau d'intensité sonore relatif

Une différence moyenne de 3 dB a été détecté, la nuit dans la salle BI par rapport à la salle témoin sur les 5 jours post-inoculation. Ce résultat traduit une intensité sonore deux fois plus élevée dans la salle essai (BI) comparé à la salle témoin (Figure 2). Ceci traduit également une activité acoustique des poulets plus élevée de nuit dans cette salle. Les symptômes de la Bronchite Infectieuse ont été clairement visibles et audibles par les animaliers à J+3-J+4, or l'étude des niveaux sonores, a montré une augmentation nette de l'intensité dans la salle essai (BI) dès J+2 (Figure 2). Une différence est considérée comme significative à partir de 2 dB. Ceci correspond à une augmentation de l'intensité sonore de 50% (intensité sonore équivaut au niveau sonore). D'après la Figure 2, le niveau sonore de la salle témoin est plutôt stable, tout au long de l'essai.

Figure 2. Evolution du niveau sonore relatif (dans la salle témoin et essai-BI) de nuit en fonction du nombre de jours d'inoculation



2.2. Caractérisation des éternuements et râles

La figure 3 représente deux spectrogrammes, (a) d'un éternuement et (b) d'un râle. Cette représentation est proche de la perception humaine car l'oreille humaine est capable d'analyser l'évolution temporelle de la fréquence d'un signal ainsi que son niveau sonore. Les fréquences permettent d'apprécier si l'événement est grave ou aigu en fonction du temps et l'énergie si l'événement est perceptible à l'oreille. L'éternuement est court dans le temps, 0.25 s, et son énergie est distribuée sur une bande de fréquences de 200 Hz à 5 kHz. Le râle est un événement plus faible et est confondu avec le bruit. De plus, l'énergie du râle se situe entre 100 et 1 kHz. L'ACP réalisée sur les 400 signaux sonores labellisés (278 éternuements et 122 râles) permet de mettre en évidence 3 clusters séparés, 2 relatifs à l'éternuement (Cluster 2 et 3 sur la Figure 4, respectivement en rouge et bleu) et 1 relatif au râle (Cluster 3 sur la Figure 4 en vert). L'éternuement est caractérisé par les paramètres acoustiques : skewness, kurtosis, facteur de crête, fréquence moyenne, étalement fréquentiel, amplitude maximale, l'énergie ainsi que la valeur efficace du signal (en bleu et rouge sur la Figure 4). Ces derniers indicateurs acoustiques identifiés présentent des moyennes significativement différentes (au seuil de significativité de 5%) et supérieures pour l'éternuement par rapport au râle. Le râle est, quant à lui, caractérisé par les autres paramètres acoustiques : la durée du signal, étalement temporel, amplitude maximale et le temps moyen (Figure 4). Tous ces paramètres ont une moyenne supérieure pour le râle et significativement différente (au seuil de significativité de 5%) des moyennes de l'éternuement (Tableau 2).

Figure 3. Spectrogramme (a) d'un éternuement (b) d'un râle.

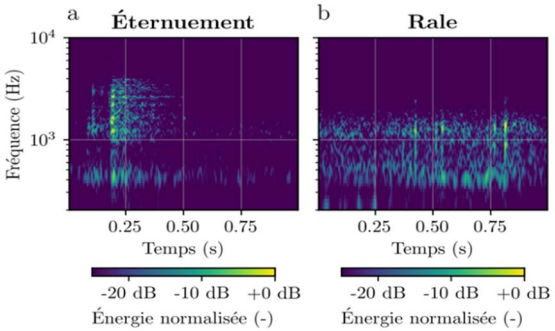


Figure 4. Biplot des résultats de l'Analyse en Composante Principale (ACP) appliquée sur les descripteurs acoustiques

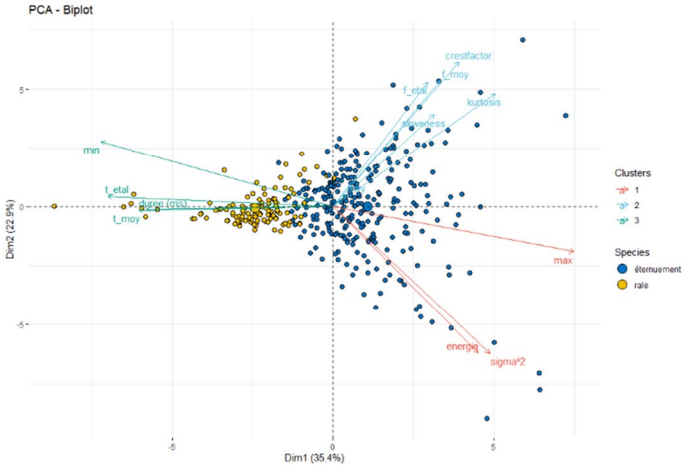


Tableau 2. Moyennes des indicateurs acoustiques calculés pour le râle et l'éternuement (en gras les variables qui caractérise chaque symptôme et donc significativement différent)

Indicateur	Moyenne râle	Moyenne éternuement
Skewness (sans unité)	0,17	**0,38**
Kurtosis (sans unité)	15,30	**36,24**
Facteur de crête (sans unité)	11,33	**14.31**
Fréquence moyenne (Hz)	1289,48	**1783,79**
Etalement fréquentiel (Hz)	1212,04	**1758,82**
Amplitude maximale (V)	0,02	**0,07**
Valeur efficace (V)	0,000026	**0,000038**
Energie (V^2)	**0,12**	1,19
Durée (s)	**1,09**	0,69
Etalement temporelle (s)	**0,27**	0,08
Amplitude minimale	**-0,01**	-0,06

(V)		
Temps moyen (s)	**0,56**	0,32

2.3. Performances de l'algorithme de détection automatique de symptômes développés

Le modèle de réseau de neurones mis en place dans cette étude affiche 82% de précision pour les données de test. 4 classes ont été évaluées : Eternuement, Râle, Pépiement et Autre (Tableau 3). Pour la classe Eternuement, 104 ont bien été identifiés (Vrais Positifs : VP) parmi 109 et 20 Faux Positifs (FP), 82 Vrais Négatifs (VN) et 5 Faux Négatifs. Cela amène à une sensibilité (VP/(VP+FN)) de 95% et une spécificité (VN/(VN+FP)) de 80%. La classe râle affiche une sensibilité de 65% et une spécificité de 98%. La classe Pépiement donne une sensibilité de 71% et une spécificité de 99%. 69% de sensibilité et 94% de spécificité ont été obtenus pour la classe Autre (Tableau 3). Ces résultats sont assez encourageants, notemment pour les éternuements,puisque la précision du modèle pour la classe éternuement est en concordance avec celle obtenue par Carpentier et al. (2019). Le modèle de réseaux de neurones développé dans cette étude a été entraîné sur une base de données assez réduite surtout pour les classes Râle, Pépiement et Autre. Il serait intéressant, par la suite, d'alimenter la base avec davantage de données en vue d'améliorer sa performance et sa robustesse.

Tableau 3. Matrice de confusion du modèle de prédiction réalisé

Prédiction	**Référence**			
	Autre	**Eternuement**	**Pépiement**	**Râle**
Autre	18	3	5	4
Eternuement	6	104	6	8
Pépiement	0	2	30	0
Râle	2	0	1	22

CONCLUSION

Il apparaît dans cette étude que l'éternuement est un son court (0,25s) et nettement distinguable à l'oreille. Le râle est, quant à lui, un événement plus long (1,09s), moins fréquent et qui peut être confondu avec le bruit de fond. Le modèle de prédiction a été développé sur des événements avec une durée d'1s. Il présente de meilleurs résultats pour une détection automatique des éternuements : 95 % de sensibilité, contre et 65 % pour les râles. La base de donnée utilisée sera prochainement alimentée avec davantage de signaux labellisés pour améliorer les performances de détection du modèle. Le niveau sonore émis par les animaux pendant la phase nocturne semble être un indicateur intéressant pour détecter précocement une pathologie associée à l'expression de symptômes, ici respiratoires pour la BI. Ces résultats préliminaires en conditions expérimentales sont prometteurs pour de futurs essais. Il faudra répéter cet essai dans les mêmes conditions expérimentales pour vérifier si les 3décibels d'écarts entre les 2 salles est systématique et donc bien lié à l'inoculation.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été conduite dans le cadre du projet Cas Dar 2019 EBroilerTrack (n°18ART1832), piloté par l'ITAVI en partenariat avec l'INRAe et l'Institut de l'élevage. Elle a bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture et de l'interprofession poulets de chair (CIPC). Nous remercions la direction de la Plateforme d'Infectiologie d'avoir réalisée ces essais, dont l'équipe zone confinée et plus précisément les pilotes de l'étude expérimentale, Sylvain Breton et Alexis Pléau.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Astill J., Dara R-A., Fraser E.D-G., Roberts B., Sharif S. ; 2020. Smart poultry management: Smart sensors, big data, and the internet of things. Computers and Electronics in agriculture 170, 105291.

Banakar A., Sadeghi M., Shushtari A. ; 2016. An intelligent device for diagnosing avian diseases:Newcastle, infectious bronchitis, avian influenza. Comput. Electron. Agric. 127, 744-753.

Cappe O., Elimination of the musical noise phenomenon with the Ephraim and Malah noise suppressor ; 1994. IEEE Transactions on Speech and Audio Processing, 2(2), p.345-349.

Carpentier L., Berckmans D., Youssef A., Berckmans D., Van Waterschoot T., Johnston D., Ferguson N., Earley B., Fontana I., Tullo E., Guarino M., Vranken E., Norton T. ; 2018. Automatic cough detection for bovine respiratory disease in a calf house. Biosyst. Eng. 173.

Carpentier L., Berckmans D., Vranken E., Paeshuyse J. ; 2019. Development of sound-based poultry health monitoring tool for sneeze detection. Computers and Electronics in Agriculture 162, 573-581.

Carroll B-T., Anderson D-V, Daley W., Harbert S., Britton D-F., Jackwood M-W. ; 2014 Detecting symptoms of diseases in poultry through audio signal processing. IEEE Glob Conf. Signal Inf. Process Glob. 1132-1135.

Chedad A., Moshou D., Aerts J-M., Van Hirtum A., Ramon H., Berckmans D. ; 2001. Recognition system for pig cough based on prohabilistic neural networks. J. Agric. Eng. Res. 79, 449-457.

Chung Y., Oh S., Lee J., Park D., Chang H-H, Kim S. ; 2013. Automatic detection and recognition of pig wasting diseases using sound data in audio surveillance systems. Sensors (Suisse) 13, 12929-12942.

Créach P., Travel A., Bouvarel I. ; 2019. L'image et le son pour automatiser le relevé d'indicateurs de bien-être et de santé des volailles. Revue TeMa n°51.

Dal Pozzo F., 2019. Pathologies respiratoires chez les poulets, AMCRA Wallonie Elevage, 2019 dossier Sanitaire p64

Dawkins MS ; 1998. Evolution and Animal Welfare. The Quarterly Review of Biology ;73(3):305□28.

Du X., Lao F., Teng G. ; 2018. A sound source localisation analytical method for monitoring the abnormal night vocalisations of poultry. Sensors (Suisse).

Ephraim Y. and Malah D., Speech enhancement using a minimum-mean square error short-time spectral amplitude estimator ; 1984. IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing, 32(6), pp.1109-1121.

Michaud F., Créach P., Brouard B., Gazengel B., Simon L., Collin A., Métayer-Coustard S., Travel A. ; 2019. Vocalisations du poussin : développement d'une méthode d'enregistrement et d'analyse. Treizièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 20 et 21 mars.

Rizwan M., Carroll B-T., Anderson D-V, Daley W., Harbert S., Britton D-F, Jackwood M-W ; 2017. Identifying rale sounds in chickens using audio signals for early disease detection in poultry. In: 2016 IEEE Global Conference on signal and Information processing, GlobalSIP 2016 – Proceedings.

Vandermeulen J., Bahr C., Johnston D., Earley B., Tullo E., Fontana I., Guarino M.Exadaktylos V., Berckmans D. ; 2016. Early recognition of bovine respiratory disease in calves using automated continuous monitoring of cough sounds. Comput. Electron. Agric. 129, 15-16.

Wood-Gush, D.G.M., 1971. The Behaviour of Domestic Fowl. Heineman, London.

Zheng F., Zhang G., Song Z.; 2001 Comparison of different implementations of MFCC. J. Computer Science & Technology, 16(6): 582-589.

SESSION NUTRITION

SESSION NUTRITION

Communications orales

INGESTION DE LARVES VIVANTES DE MOUCHES SOLDAT NOIRES (HERMETIA ILLUCENS) PAR LE POULET DE CHAIR

Recoules Emilie[1], Même Nathalie[2], Lardic Lionel[1], Gambier Eric[1], Bernard Jérémy[2], Guidou Côme[3], Trespeuch Christophe[3], Méda Bertrand[1]

[1]INRAE, Université de Tours, BOA - 37380 - NOUZILLY
[2]INRAE, Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours - 37380 - NOUZILLY
[3]MUTATEC - 1998, Chemin du Mitan - 84300 - CAVAILLON

emilie.recoules@inrae.fr

RÉSUMÉ

L'utilisation de larves de mouches soldat noires (*Hermetia illucens*) dans l'alimentation des volailles constitue une alternative intéressante au tourteau de soja pour améliorer la durabilité de la filière. Les études existantes portent sur des farines mais peu de données existent sur l'utilisation de larves vivantes (LV). Avant de pouvoir caractériser leur valeur nutritionnelle (composition et digestibilité) par une approche de digestibilité classique, il semblait nécessaire d'acquérir des connaissances sur l'ingestion et la digestion des LV par les animaux. Pour cela, une étude sur poulets Ross 308 (n=144) a été réalisée. Après une période de démarrage au sol, les animaux ont été répartis en 4 lots expérimentaux : un lot témoin (T) recevant un aliment complet granulé; deux lots recevant un mélange de granulés (identique à T) et de LV (AL1, AL2) et un lot recevant uniquement des LV à volonté (LS). Les animaux ont été placés en cages individuelles de J14 à J29. A J29, les animaux ont été mis à jeun puis réalimentés avant d'être euthanasiés. Les contenus des différents segments digestifs ont été collectés et les segments vides pesés. Les animaux LS avaient un poids vif final inférieur aux autres lots *(P<0,001)*. Pour les lots AL1 et AL2, la quasi-totalité des larves distribuées a été consommée. Les consommations moyennes journalières en frais (granulés + insectes, en brut) indiquent une consommation supérieure pour le lot LS, inférieure pour le lot T et intermédiaire pour les lots AL1 et AL2 *(P<0,001)*. La consommation d'eau était inférieure pour le lot LS et supérieure pour le lot T *(P<0,001)*. Ces résultats indiquent qu'il est possible d'introduire 20% de LV dans la ration et qu'un protocole de digestibilité classique peut être utilisé pour déterminer la valeur nutritionnelle des LV.

ABSTRACT
Exploring the ingestion and digestion of alive Black Solder Fly larvae (Hermetia illucens) by broiler

The use of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) in poultry feed is an attractive alternative to soybean meal to improve the sustainability of the poultry production systems. Existing studies focus on insect meal, but little data exists on the use of living larvae (LV). Before being able to characterize their nutritional value (composition and digestibility) using a classical digestibility approach, it seemed necessary to acquire knowledge on the ingestion and digestion of LV by animals. For this, a study on Ross 308 broiler chickens (n = 144) was carried out. After a starter period, the animals were divided into 4 experimental groups: control (T) receiving a complete granulated feed; two groups receiving a mixture of feed (identical to T) and LV (AL1, AL2) and one group receiving only LV (LS). The animals were placed in individual cages from d14 to d29. On d29, the animals were fasted and then re-fed before being euthanized. The contents of the different digestive segments were collected and the empty segments weighed. The LS group had a lower final body weight than the other groups (*P <0.001*). For groups AL1 and AL2, almost all of the larvae distributed were consumed. The average daily consumption (feed + insects, on a fresh basis) indicates a higher consumption for LS, lower for T and intermediate for AL1 and AL2 (*P <0. 001*). Water consumption was lower for LS and higher for T (*P <0.001*). These results indicate that it is possible to introduce 20% LV into the diet and that a standard digestibility protocol can be used to determine the nutritional value of LV.

INTRODUCTION

Afin d'améliorer la durabilité des systèmes de production avicoles, le recours à des ressources protéiques locales est nécessaire. Les insectes et particulièrement les larves de mouches soldat noires (BSF, *Hermetia illucens*) apparaissent comme une ressource alternative intéressante car elles sont très riches en protéines et en matières grasses (Makkar *et al.*, 2014 ; Khan, 2018). Plusieurs études décrivant l'utilisation potentielle de larves de BSF chez la volaille sont disponibles dans la littérature, mais elles se concentrent principalement sur l'utilisation de farines dégraissées ou d'huiles extraites des larves (De Marco *et al.*, 2015).
En élevage, l'utilisation d'insectes vivants, bien qu'autorisée par la réglementation, n'est aujourd'hui pratiquée que comme un enrichissement du milieu de vie, et pas comme une source de nutriments pour les animaux. Pour être considérée comme une matière première en tant que telle et faire partie intégrante de la ration et/ou de la stratégie alimentaire, la valeur nutritionnelle des larves de BSF doit donc être caractérisée.
Pour cela, un essai de digestibilité doit être réalisé. Or, le comportement d'ingestion et la physiologie digestive des animaux nourris avec des larves entières, nécessaires à l'élaboration d'un protocole de digestibilité, sont mal connus. L'objectif de cet essai est donc d'acquérir des informations sur l'ingestion de larves d'insectes entières vivantes par des poulets de chair, afin de s'assurer que le protocole de digestibilité classique (quantités ingérées, temps de jeun, durée de réalimentation, moment de prélèvement après mise à mort) est pertinent pour ce type de matière première ou de l'adapter en conséquence.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental et alimentation

L'étude a été réalisée dans les installations expérimentales du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours sur des poulets de chair Ross 308 élevés de 1 à 28/29 jours. Les animaux (n = 200) ont été élevés au sol de J1 à J7. A J8, ils ont été répartis en deux groupes : Standard (S, n = 50) et Larves (L, n = 150). A J14, 144 animaux (36 issus du groupe S et 108 issus du groupe L) ont été répartis en 4 lots (T, AL1, AL2, LS ; n = 36) sur la base du poids vif puis mis en cages individuelles. Le lot T provient du groupe S et les lots AL1, AL2 et LS proviennent du groupe L.
De J1 à J7, tous les animaux ont été nourris *ad libitum* avec un aliment démarrage standard granulé. Entre J8 et J16, une transition alimentaire progressive a été réalisée avec des mélanges d'aliment démarrage et d'aliment croissance, pour les deux groupes (S et L), complétés par 3 repas par jour (matin, midi, fin d'après-midi) de larves vivantes pour le groupe L puis les lots AL1, AL2 et LS. L'alimentation était ad libitum par groupe au sol (de J8 à J13), puis rationnée en individuel à partir de la mise en cage (J14).
Le rationnement en granulés a été fait sur la base des apports théoriques (recommandations sélectionneur) + 10% pour le lot T et 80% de cet apport pour les lots AL1, AL2 et LS. Les quantités de larves journalières distribuées aux lots AL1, AL2 et LS correspondent aux 20% restants (sur une base matière sèche). Les larves étaient mélangées aux granulés.
A partir de J17, début de la période expérimentale, l'aliment granulé était un aliment 100% croissance et le lot LS a reçu 100% de larves vivantes en quantités équivalentes (en sec) à celles distribuées pour le lot T. Les lots AL1 et AL2 étaient strictement identiques jusqu'à la fin de l'étude. Lors de la période de réalimentation avant la mise à mort, le lot AL1 a reçu l'intégralité de sa ration (granulé + larves) en une seule fois au début de la réalimentation tandis que pour le lot AL2, les granulés ont été distribués en une seule fois au début de la réalimentation et les larves ont été distribuées en 3 fois. Ceci afin de voir si les modalités de réalimentation avaient un impact sur la consommation avant euthanasie et par conséquent sur la quantité de contenu digestif au moment des prélèvements.
Les quantités d'aliments et de larves distribuées ont été calculées pour chaque jour. La consommation de larves et de granulé a été mesurée séparément et chaque jour pendant la période expérimentale. La composition des aliments démarrage et croissance est présentée dans le Tableau 1.

1.2. Performances zootechniques

Le poids vif a été mesuré en individuel toutes les semaines (J1, J8, J14, J21 et J28/J29). Les mesures ont été faites le matin avant allumage pour s'affranchir de la prise alimentaire.
La consommation d'aliment granulé a été faite par groupe sur la période J1-J7 et à chaque changement d'aliment sur la période de transition alimentaire (J8-J10, J11-J13). A partir de J14 (en cage), la consommation d'aliment granulé, de larves ainsi que la consommation d'eau ont été mesurées quotidiennement et en individuel. Ces mêmes consommations ont également été mesurées lors de la phase de réalimentation avant la mise à mort (J28/J29).

1.3. Prélèvements

A J28/J29, après une mise à jeun de 17 h, les animaux ont été réalimentés pendant 3h30 de manière synchronisée avec l'heure de mise à mort. Le contenu des différents segments digestifs a été collecté et les tissus digestifs vides ont été pesés.

1.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (packages Rcmdr, pgirmess). L'homogénéité des variances entre lots a été testée par le test de Levene. La normalité de la distribution a été testée par lot avec le test de Shapiro-Wilk. Selon ces résultats, l'effet du régime alimentaire (lot) a été testé sur différents critères soit par un test non paramétrique de Kruskal-Wallis, soit par une ANOVA.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Sur les 200 animaux utilisés au départ, aucune mortalité n'a été observée pendant la période au sol. Seul un animal (Lot AL1) est mort à J26.

2.1. Composition des larves

Les larves de BSF utilisées étant vivantes, plusieurs lots ont été réceptionnés et utilisés au cours de l'étude. A chaque réception, un échantillon a été prélevé et analysé afin de déterminer la composition chimique et d'évaluer l'homogénéité entre les différents lots utilisés. La composition moyenne sur brut est de 1859 ± 30 kcal (Energie brute) ; 14,9 ± 0,4 % de protéines (N*6.25) et 7,9 ± 0,8 % de matières grasses (après hydrolyse). Une teneur en matière sèche moyenne de 30% a été considérée (Guidou, comm. pers.).

2.2. Poids vif et gain moyen quotidien

L'évolution du poids vif entre J1 et la fin de l'étude est représentée sur la Figure 1. A J21, seul le lot LS présentait un poids vif significativement inférieur (*P<0,001*) aux autres lots d'environ 141 g (LS : 637±65 g ; AL1 : 775±87 g ; AL2 : 806±72 g ; T : 755±95 g). Entre J21 et la fin de l'étude, cette tendance s'est poursuivie et le poids vif final était significativement plus faible (*P<0,001*) pour le lot LS d'environ 498 g comparé aux autres lots (LS : 837±111g ; AL1 : 1344±160 g ; AL2 : 1415±159 g ; T : 1246±192 g). Le poids final du lot LS correspond à peu près au poids à J21 des autres lots, ce qui indique un retard de développement d'environ une semaine pour ce lot.

Concernant le gain moyen quotidien (GMQ), une différence significative entre les lots sur la période J14-J20 a été observée, avec un GMQ inférieur pour le lot LS (36±6 g/j). Aucune différence significative n'est observée entre les autres lots (T : 50±6 g/j ; AL1 : 52±9 g/j ; AL2 : 56±6 g/j). Entre J21 et la fin de l'étude, seuls les lots AL1 et AL2 ont des GMQ similaires (AL1 : 67±7 g/j ; AL2 : 71±7 g/j) les plus élevés comparés aux lots LS (23±7 g/j) et T (57±10 g/j ; *P<0,001*).

2.3 Consommation d'aliment et de larves

Afin de valider l'hypothèse de rationnement et de construction des régimes, les quantités de granulés et de larves distribuées chaque jour ont été comparées aux quantités ingérées. Les résultats indiquent que la quasi-totalité de la ration a été consommée pour les lots T, AL1 et AL2 et ce chaque jour entre J14 et la fin de l'étude expérimentale. Pour le lot LS, les quantités offertes étaient beaucoup trop importantes et ont été ajustées au jour le jour pour limiter le gaspillage tout en n'étant pas limitant. Cependant, distribuer des quantités importantes nous a permis d'estimer la capacité d'ingestion de larves vivantes, avec un maximum à 270±46 g observé à J26. Toutefois, les quantités consommées pour le lot LS sont à prendre avec précaution compte tenu que du gaspillage a pu être observé mais non mesuré.

Les consommations moyennes journalières (g/j) exprimés sur sec sont présentées sur la Figure 2. Que ce soit sur les périodes J14-J20, J21-fin ou sur la totalité de la période expérimentale, J17-fin, les résultats sont identiques. La consommation moyenne journalière était significativement plus faible (*P< 0,001)* pour le lot LS, ce qui s'explique certainement par l'encombrement, la forte teneur en eau et le déséquilibre nutritionnel des larves vivantes. Le lot T avait une consommation significativement supérieure aux lots LS et AL1 mais pas au lot AL2. Les lots AL1 et AL2 ne présentaient pas de différence significative. Par contre, on note que le ratio granulé/larves était plutôt de 70/30 contrairement au ratio théorique prévu de 80/20. Ce ratio a été observé pour les deux lots AL1, AL2 et était constant dans le temps. Cela peut s'expliquer par une consommation préférentielle des larves au détriment du granulé.

2.4 Indice de consommation

Sur la période J14-J20, le lot T présentait l'indice de consommation le plus faible (1,40±0,06). Le lot LS présente l'indice le plus dégradé (3,66±0,43). Les lots AL1 et AL2 avaient des indices similaires (1,94±0,21 et 1,87±0,13 respectivement), intermédiaires entre les lots T et LS.
Sur la période J21-fin, les résultats étaient similaires avec un effet significatif du lot, à l'exception des lots AL1 et AL2 qui ne sont pas significativement différents entre eux (LS : 12,33±3,26 ; AL1 : 3,08±0,21 ; AL2 : 2,89±0,81 ; T : 2,48±0,30, *P<0,001*). La forte différence de valeur d'indice de consommation mesurée pour le lot LS peut certainement s'expliquer par l'encombrement, la forte teneur en eau et le déséquilibre nutritionnel des larves vivantes.
Malgré une tentative de compenser cette faible valeur nutritionnelle en augmentant leur niveau d'ingestion, les animaux n'ont probablement pas été capables de compenser ce déficit, peut-être en raison d'un problème d'encombrement et de capacité maximale d'ingestion. Ceci s'est donc traduit par un gain de poids nettement plus faible dans le lot LS, en comparaison des autres lots, et donc une efficience alimentaire fortement dégradée.

2.5 Consommation d'eau

L'effet du lot sur la consommation moyenne journalière en eau est présenté sur la Figure 3 pour les différentes périodes. Une différence significative de consommation entre lots à l'exception des lots AL1 et AL2 a été observée. Les lots LS et T présentaient respectivement une consommation en eau inférieure et supérieure aux autres lots ($P<0,001$). Cela peut s'expliquer par la teneur en eau de l'ingéré, supérieure pour le lot LS et inférieure pour le lot T.

2.6 Poids des tissus digestifs

Les poids relatifs des différents segments sont présentés dans le Tableau 2. De manière générale, il y a un effet du régime alimentaire sur le poids des segments digestifs à l'exception du pancréas et des caeca. Les différences les plus significatives ont été observés pour proventricule-gésier et duodénum. Le lot LS avait un poids relatif de proventricule-gésier et duodénum plus élevés comparé aux autres lots. Sur le proventricule gésier, le lot T avait le poids relatif le plus faible, le lot LS le poids le plus élevé, tandis que les lots AL1 et AL2 étaient intermédiaires. Le fait que les lots AL1 et AL2 soient supérieurs au lot T laisse penser que la présence de larves entières vivantes dans l'alimentation ait un rôle positif sur le développement du proventricule gésier. Cependant, pour le lot LS, il faut garder à l'esprit que le poids vif final des animaux était nettement plus faible. Or, d'après Alshamy *et al.* (2018), le gésier présente une croissance allométrique négative par rapport au poids total. Ainsi, le poids supérieur du proventricule-gésier des animaux du lot LS pourrait davantage être expliqué par leur retard de développement global par rapport aux autres lots.

CONCLUSION

Cette étude expérimentale exploratoire a permis de mieux caractériser l'ingestion de larves vivantes par les animaux. Les résultats indiquent qu'il est possible d'introduire 20 à 30% de la ration « sèche » sous forme de larves vivantes ce qui est compatible avec un protocole de digestibilité classique afin de mesurer la valeur nutritionnelle des larves vivantes de BSF. Des analyses complémentaires sur les contenus digestifs (pH, digestibilité des protéines…) sont en cours avant la réalisation d'un essai de digestibilité.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'Institut Carnot France Futur Elevage pour le soutien financier du projet (projet PINHS, 2020-2023), la société MUTATEC pour l'approvisionnement en larves vivantes et leur expertise, ainsi que le personnel de l'unité expérimentale PEAT et plus particulièrement Patrice Ganier, Marine Chahnamian et Florine Pinault pour leur implication dans l'étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alshamy Z., Richardson K.C., Hünigen H., Hafez H.M., Plendl J., Al Masri S., 2018. PLoS ONE, (13), e0204921.
De Marco M., S. Martínez, Hernandez F., Madrid J., Gai F., Rotolo L., Belforti M., Bergero D., Katz H., Dabbou S., 2015. Anim. Feed Sci. Tech., (209), 211□218.
Khan S.H., 2018. J. Applied Anim. Res., (46), 1144-1157.
Makkar H.P.S., Tran G., Heuzé V., Ankers P., 2014. Anim. Feed Sci. Tech., (197), 1□33.

Tableau 1. Composition des aliments expérimentaux

Ingrédients (%)	Démarrage	Croissance
Maïs	50,361	47,17
Blé	10,00	20,00
Tourteau de soja	33,072	24,802
Huile de soja	2,116	3,68
DL Méthionine	0,29	0,211
Carbonate de calcium	0,627	0,407
Phosphate Bicalcique	2,341	1,995
Sel	0,3	0,3
Prémix	0,4	0,4
Lysine HCl	0,241	0,237
Thréonine	0,142	0,115
Valine	0,06	0,033
Anticoccidien	0,05	0,05
Dioxyde de titane		0,6
TOTAL	*100*	*100*

Caractéristiques analysées	Démarrage	Croissance
MS (%)	89,05	89,44
EB (kcal)	3964	4052
MG (A, %)	5,02	6,34
MG (B, %)	5,14	6,97
Cendres (%)	5,84	5,49
Protéines (% , N*6.25)	20,99	18,19
Phosphore total (mg/g)		6,5
Calcium (mg/g)		8,6

Figure 1. Evolution du poids selon les traitements expérimentaux.



Figure 2. Consommation moyenne journalière d'aliment (granulé + larves, en sec) par lot et par période.

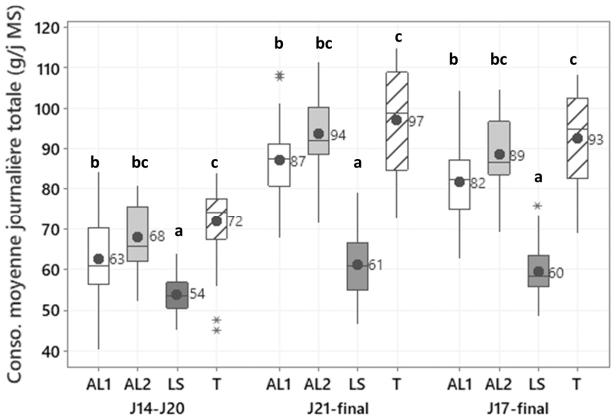


Figure 3. Consommation moyenne journalière d'eau par lot et par période.

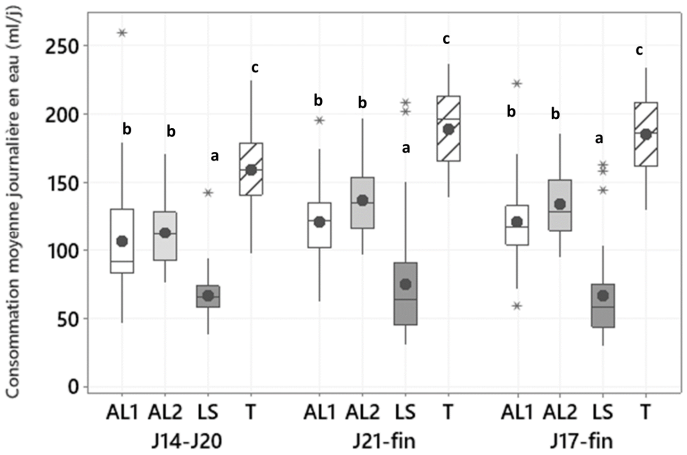


Tableau 2. Poids des segments digestifs en relatif au poids vif final (%).

	AL1	AL2	LS	T	P-value
Jabot	0,47 ± 0,11 **b**	0,44 ± 0,10 **ab**	0,4 ± 0,1 **a**	0,46 ± 0,11 **ab**	0.05
Proventricule-Gésier	2,02 ± 0,44 **b**	1,96 ± 0,48 **b**	2,9 ± 0,34 **c**	1,6 ± 0,41 **a**	0.001
Duodénum	0,75 ± 0,14 **a**	0,73 ± 0,16 **a**	1,13 ± 0,18 **b**	0,79 ± 0,14 **a**	0.001
Pancréas	0,24 ± 0,05	0,26 ± 0,04	0,25 ± 0,05	0,27 ± 0,05	NS
Jéjunum	1,24 ± 0,19 **a**	1,3 ± 0,26 **ab**	1,43 ± 0,22 **b**	1,38 ± 0,33 **b**	0.01
Iléon	0,95 ± 0,18 **a**	1,0 ± 0,11 **a**	0,99 ± 0,17 **a**	1,19 ± 0,18 **b**	0.001
Caeca	0,33 ± 0,07	0,33 ± 0,07	0,34 ± 0,06	0,37 ± 0,08	NS
Total	5,75 ± 0,66 **a**	5,75 ± 0,49 **a**	7,19 ± 0,75 **b**	5,79 ± 0,69 **a**	0.001

REPONSE DU POULET JA757 A LA CONCENTRATION NUTRITIONNELLE ET A L'APPORT D'HUILE LORS D'UN STRESS THERMIQUE.

Sakkas Panagiotis [1], Toudic Claude[2], Bentley James[2], Hubert Nicolas[1], Bebin Karine[1], Panheleux Marina [1]

[1] *Groupe CCPA, ZA du Bois de Teillay, Quartier du Haut Bois, 35150 Janzé, France*
[2] *Hubbard, Mauguérand, 22800 Le Foeil, France*

psakkas@ccpa.com

RÉSUMÉ

Le stress thermique impacte la réponse métabolique et les performances des poulets. L'adaptation des normes nutritionnelles est une des voies possibles pour favoriser la croissance lors de phases de chaleur en élevage. 960 poulets JA757 mâles ont été répartis dans 4 groupes selon le schéma factoriel (2X2) suivant : 2 niveaux nutritionnels respectivement appelé HD et LD (pour Haute et Basse Densité en energie et en proteines brutes) de 0 à 49j x 2 niveaux d'huile (2% vs 5% huile de soja) dans l'aliment finition (28-49j). Le découpage alimentaire était en 3 phases : démarrage (0-14j), croissance (14-28j) et finition (28-49j). Un stress thermique cyclique diurne a été appliqué de 28 à 35j puis de 42 à 49j (8 heures à 32°C ; 16 heures à 26°C). La réponse zootechnique des poulets à la concentration nutritionnelle est conforme à l'attendu en période de thermoneutralité (0-28j) : la croissance (GMQ), la consommation (CMJ) et l'efficacité alimentaire (IC) sont impactés avec les aliments HD (+2.1 % de GMQ, -1.8 % de CMJ, -4.9 % d'I.C). Durant le stress thermique (en finition), les poulets des groupes HD présentent des CMJ et IC significativement inférieur des groupes LD (-2.7 % et - 4%, respectivement). L'ajout de 3% d'huile de soja n'a pas amélioré la croissance ni l'efficacité alimentaire des poulets lors du stress thermique. Aucune différence de rendement n'a été mise en évidence entre les groupes. En conclusion, les régimes HD peuvent améliorer l'efficacité alimentaire du poulet JA757 quel que soit les conditions thermiques.

ABSTRACT

Effects of diet density and oil inclusion level on JA757 broilers in the face of heat stress

Heat stress (HS) impairs broiler performance and responses may be modulated by diet formulation practices. Herein, we investigated the effects of offering diets with low (LD) or high (HD) energy and protein density to birds during the starter (d0-14), grower (d14-28) and finisher periods (d28-49) and exposed to cyclic heat stress (8 hrs 32°C; 16 hrs of 26°C) during weeks 1 (d28-35) and 3 (d42-49) of the finishing period (d28-49). In addition, we investigated the effects of low (2%; LF) or high (5%; HF) soy oil incorporation levels during the finisher period, within each diet density level. A total of 960 JA757 male day-old chicks were randomly allocated to 24 pens. Performance data over the starter and grower periods were analysed with diet density as the factor, while weekly performance data over the finisher period, overall finisher (d28-49) and growing period (d0-49) and carcass yield data of 60 birds (d49) were analysed with diet density and fat level as fixed factors and their interaction. HD birds showed significantly ($p < 0.05$) reduced ADFI and FCR over all experimental periods. A greater ADG ($p < 0.1$ during starter and $p < 0.05$ during grower periods) was observed for HD in comparison to LD birds, prior to heat stress exposure, but effects were absent during the finisher period. Dietary oil inclusion level did bear appreciable effects on bird performance while carcass yield parameters were unaffected by treatments. In conclusion, HD diets may improve FCR in birds of this genotype irrespective of ambient temperatures.

INTRODUCTION

Le stress thermique (ST) impacte la santé et la croissance des poulets, surtout au cours des derniers stades d'élevage, lorsqu'ils présentent une tolérance réduite à la chaleur (Syafwan et al., 2011). Les poulets réduisent notamment leur consommation (CMJ) lors d'une exposition à la chaleur afin de faciliter la dissipation de la chaleur liée à la thermogénèse alimentaire, avec pour conséquence la réduction de leur croissance. L'efficacité alimentaire peut également diminuer en raison de la digestibilité réduite des nutriments, des perturbations de la santé intestinale et des altérations du métabolisme post-absorptif (Sohail et al., 2012; Ma et al., 2018; Quinteiro-Filho et al., 2012). En outre, les effets de l'exposition chronique au ST peut impacter les dépôts de gras et de protéines et la qualité de la viande des poulets (Lu et al., 2007; Imik et al., 2012; Zhang et al., 2012; Gholamreza et al., 2019).

Il existe un certain degré d'incertitude dans la littérature autour de la teneur en protéine brute (PB) et en énergie (EMAn) des aliments à distribuer aux poulets subissant un stress thermique. Deux théories sont avancées concernant l'apport protéique : soit d'offrir des régimes plus bas en PB pour réduire la thermogénèse alimentaire et par conséquent faciliter la consommation d'aliment ou de distribuer des régimes concentrés en protéines pour compenser la réduction de CMJ. Des études précédentes démontrent qu'un apport de PB élevé peut affecter négativement les performances dans des conditions de ST (Cheng et al., 1997), car le métabolisme protéique génère une plus forte production de chaleur que celle des glucides ou des lipides (Musharaf et Latshaw, 1999). D'autres études montrent que la diminution du niveau protéique entraîne une augmentation linéaire de l'IC chez les poulets soumis à une contrainte thermique, alors qu'aucun effet négatif n'a été observé lorsqu'ils sont élevés en zone de neutralité thermique (Zulkifli et al., 2018).

Concernant l'énergie, certains auteurs suggèrent que l'augmentation de la densité énergétique alimentaire (par addition de lipides) peut partiellement surmonter l'effet du ST, car il peut permettre une augmentation de l'apport énergétique, tout en réduisant l'augmentation de la thermogénèse alimentaire (Renaudeau et al., 2012; Syafwan et al., 2011 ; Ghazalah et al., 2008).

Toutes ces études ont été réalisées sur des lignées de poulets à croissance rapide. Bien que les poulets à croissance lente puissent afficher une plus grande tolérance à la chaleur, en partie attribuable à leurs moindre potentiel anabolisant (Tickle et al., 2019), aucune étude n'a été menée pour déterminer leurs réponses à la concentration nutritionnelle dans des conditions de ST.

Dans cette étude, nous avons exposé des poulets d'une lignée à croissance intermédiaire (JA757) à un ST cyclique (en finition) afin de mesurer leur réponse à la concentration nutritionnelle et à l'apport d'huile. Nous avons testé les hypothèses selon lesquelles: i) les effets sur les performances d'une alimentation à haute densité (HD) par rapport à une alimentation à faible densité (LD) en début d'élevage persisteront à la fois pendant la période de ST, ii) L'apport de matières grasses, via de l'huile de soja (HF) pendant la période de finition améliorera les performances. En outre, nous avons étudié les effets des traitements alimentaires sur les paramètres de rendement de la carcasse en partant de l'hypothèse qu'ils ne seront pas affectés par les régimes alimentaires.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Scheme expérimental

960 males poussins JA757 ont été répartis au hasard dans 24 parquets et ont reçu des régimes HD ou LD pendant les périodes de démarrage (DM ; 0-14j), croissance (CR; 14-28j) et finition (FIN; 28-49j). Au cours de FIN, les poulets de chaque densité alimentaire ont reçu des régimes ayant une teneur faible (LF) ou élevée (HF) en huile de soya (2 % contre 5 %). Les niveaux nutritionnels appliqués sont rassemblés dans Tableau 1 (les niveaux en acides aminés essentiels digestibles sont iso-nutritionnels en ratio a la lysine digestible entre les régimes). Un modèle de ST cyclique diurne a été appliqué de 28 à 35j (semaine 1) puis de 42 à 49j (semaine 3) (8 heures à 32°C; 16 heures à 26°C). La température a conformé aux normes de 35j à 42j (semaine 2).

1.2. Mesures

Les poids et la CMJ des poulets ont été mesurés à la fin de la période de DM, de CR et chaque semaine pendant la période de FIN. CMJ, GMQ et IC ont été estimés pour chaque parquet pendant les périodes de DM, CR, FIN, hebdomadaire pendant FIN (semaines 1, 2 et 3) et pendant la période de croissance globale (0-49j). À J49, 60 poulets par groupe, dans la moyenne de poids, ont été abattus. Les carcasses ont été pesées et découpées pour mesurer les rendements (filet, cuisse, gras) exprimés en pourcentage du poids vif avant l'abattage.

1.3. Statistiques

L'effet de la densité (HD vs LD) pendant le DM et le CR a été évalué par ANOVA. Les données de performance hebdomadaires au cours des semaines 1, 2 et 3 de la FIN et les périodes de production FIN et globale ont été analysées avec la procédure GLM en appliquant un plan factoriel (2 X 2) avec la densité alimentaire et le niveau d'huile comme facteurs principaux et leur interaction (HD vs LD X LF vs HF). L'analyse statistique des rendements individuels a également été réalisée en appliquant la procédure

GLM. La signification statistique a été prise en compte à $p < 0,05$ et les tendances à $0,05 < p < 0,1$. Toutes les données ont été analysées avec SPSS.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Durant la phase de démarrage, les régimes HD ont eu tendance à augmenter le GMQ et le poids des poulets tout en réduisant la CMJ et en améliorant significativement l'IC (Tableau 2). Cet effet de la concentration nutritionnelle devient significatif ($p < 0.05$) en période de croissance sur tous les critères de performance mesurés. Ainsi, les poulets ont répondu à l'augmentation de la densité des régimes alimentaires conformément à l'attendu (Brickett et al., 2007). La consommation des poulets est sensible à la densité nutritionnelle tout en utilisant plus efficacement les nutriments et ainsi permettre une meilleure prise de poids (Meloche et al., 2018).

Les poids étaient plus élevés chez les poulets HD que chez les poulets LD à tous les stades de croissance. Bien que le GMQ pendant la période globale ait été significativement plus élevé pour les poulets ayant reçu le régime HD, il était similaire pendant toutes les semaines de la période de FIN (1, 2 et 3). Ce résultat montre que les régimes à haute densité n'ont pas été complétement valorisés pendant la période de finition.

La CMJ n'a pas été impactée par la densité du régime alimentaire pendant les semaines 1 et 2 (de la finition), mais a été significativement réduite pour le groupe HD en semaine 3, pendant toute la période de finition et la période globale. Ce résultat démontre que l'appétit était plus sensible à la densité alimentaire au cours de la deuxième vague de chaleur (semaine 3), qui s'est produite à un stade de croissance plus tardif. On peut supposer que les poulets ont montré une diminution de la thermotolérance pendant cette période. Néanmoins, l'IC a été considérablement amélioré en offrant un régime HD à tous les stades de la croissance. Il est évident qu'une plus grande efficacité de l'utilisation des aliments est atteinte lorsque l'on offre des régimes ayant une plus grande teneur en énergie et en PB avec un profil en acides aminés essentiels équilibré, quelles que soient les conditions ambiantes. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Attia et al., (2017) qui montrent qu'une augmentation de la concentration nutritionnelle (en PB et EMAn) a des effets positifs sur les performances de poulets exposés à un ST.

L'augmentation du niveau d'huile de soja en finition (5% vs 2%) a augmenté significativement l'IC des poulets au cours de la semaine 3 de la FIN et la période globale**.** Ce résultat va à l'encontre des hypothèses de (Ghazalah et al., 2008) qui ont démontré une amélioration d'IC en distribuant des aliments riches en gras. En revanche, ils sont conformes aux résultats d'Attia et al., (2021) qui démontrèrent que les niveaux élevés de matières grasses peuvent réduire l'efficacité alimentaire dans des conditions de ST.

Une seule interaction entre la densité du régime alimentaire et le niveau d'inclusion d'huile a été observée sur la CMJ au cours de la semaine 3 de FIN. Les poulets recevant le régime HDLF ont réduit leur CMJ par rapport aux poulets recevant le régime HDHF. Ce résultat démontre un effet positif sur l'ingéré de régimes avec des niveaux élevés en matières grasses et d'une alimentation à haute densité. Les rendements de la carcasse et des morceaux sont identiques entre groupes (Tableau 2). Ce résultat est conforme aux travaux de Johnson et al., (2020) et Zhao et al., (2009), qui n'ont pas mis en évidence de différence de rendement de carcasse en distribuant des régimes plus denses nutritionnellement (en PB et EMAn) dans des conditions de thermoneutralité sur des autres lignées de poulets.

CONCLUSION

En conclusion, les régimes HD, ont amélioré les performances de poulets à croissance intermédiaire pendant toute la période d'élevage. Cependant, les bénéfices de la concentration nutritionnelle étaient absents pendant la finition sur le GMQ, période pendant laquelle a été appliquée le ST. Enfin, nous n'avons pas vu de bénéfice à l'augmentation de la matière grasse à des niveaux élevés lors d'un stress thermique. De futures études permettront de mieux appréhender les réponses nutritionnelles de poulets de différents génotypes en condition de stress thermique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Attia, Y. A., 2017. Europ Poult Sci, (8)1(ISSN 10.1399).
Attia, Y. A., 2018. Ital. J. Anim. Sci., (20), 664–676.
Brickett, K., 2007. Poult. Sci., (86), 2172–2181.
Cheng, T. K., 1997. J. Appl. Poult. Res (6) 1–17.
Ghazalah, A. A., 2008. Int. J. Poult. Sci., (7), 355–359.
Gholamreza, Z., 2019. Poult. Sci., (98), 1551–1556.
Imik, H., 2012. Br. Poult. Sci. (53) 689–698.
Johnson, C. A., 2020. J. Appl. Poult. Res, (29), 269–283.
Lu, Q., 2007. Poult. Sci. (86) 1059–1064.
Ma, B., 2018. Poult. Sci. (97), 4150–4158.
Musharaf, N. A., (1999). Worlds Poult. Sci. J. (55), 233– 240.
Quinteiro-Filho, W.M. (2012) Avian Pathol., (41), 421–427
Renaudeau, D., (2012). Animal, (6), 707–728.
Syafwan, S., (2011). Worlds Poult. Sci. J., (67), 653–674.
Sohail, M.U. (2012). Poult. Sci., (91), 2235–2240
Tickle, P. G., (2019). J. Therm. Biol., (79), 8–14.
Zhao, J.P., (2009). Poult. Sci., (88), 2575–2584.
Zhang, Z.Y., (2012). Poult. Sci., (91), 2931–29
Zulkifli, I., (2018). Poult. Sci., (97), 1306–1314.

Tableau 1. Composition nutritionnelle des régimes alimentaires (% sauf indication contraire).

Période	DM (j0-14)		CR (j14-28)		FIN (j28-49)			
Densité	Bas	Haut	Bas	Haut	Bas		Haut	
Huile					Bas	Haut	Bas	Haut
Nutriments :								
EMV (kcal)	2870	3010	3000	3160	3100	3100	3250	3250
PB	20.5	21.5	18.5	19.5	17.0	17.0	17.9	17.8
CB	5.06	3.51	3.72	3.36	4.43	6.42	3.40	5.22
Matières Grasses	2.6	4.0	2.9	5.2	5.1	7.1	6.1	8.4
Total Ca	1.00	1.00	0.95	0.95	0.85	0.85	0.85	0.85
Digestible P	0.45	0.45	0.40	0.40	0.39	0.39	0.39	0.39
Digestible Lys	1.10	1.15	0.98	1.03	0.89	0.89	0.94	0.94

Tableau 2. Performances zootechniques obtenues par phase.

Densité	Bas		Haut		*P valeur*			
Huile	Bas	Haut	Bas	Haut	Densité	Huile	interaction	s.e.m
DM (j0-14)								
Poids	329		334		*0.092*	.	.	2.0
GMQ	20.9		21.3		*0.092*	.	.	0.15
CMJ	27.7		26.7		< 0.001	.	.	0.17
IC	1.325		1.252		< 0.001	.	.	
CR (j14-28)						.	.	
Poids	987		1014		***0.007***	.	.	6.5
GMQ	47.0		48.6		***0.007***	.	.	0.38
CMJ	78.2		76.5		***0.036***	.	.	0.53
IC	1.665		1.575		***< 0.001***	.	.	0.005
FIN (j28-49)								
Poids	2304	2292	2345	2355	***0.017***	0.965	0.587	19.9
GMQ	62.8	62.4	63.0	63.9	0.421	0.796	0.519	1.0
CMJ	127.3	127.3	122.2	125.6	***0.017***	0.224	0.197	1.3
IC	1.967	1.942	2.040	2.027	***< 0.001***	0.202	0.645	0.014
Semaine 1 (j28-35)								
Poids	1342	1325	1373	1379	***0.000***	0.578	0.266	9.8
GMQ	50.3	49.3	50.1	52.9	0.262	0.540	0.208	1.46
CMJ	101.7^{ab}	100.2^{ab}	97.6^{a}	102.6^{b}	0.578	0.264	***0.049***	1.55
IC	2.023	2.038	1.955	1.944	***0.014***	0.932	0.672	0.030
Semaine 2 (j35-42)								
Poids	1843	1838	1882	1902	***0.003***	0.612	0.423	15.0
GMQ	71.6	73.3	72.7	74.7	0.339	0.159	0.903	1.30
CMJ	137.1	138.8	132.4	137.8	0.171	0.098	0.363	2.01
IC	1.916	1.893	1.823	1.844	***< 0.001***	0.925	0.066	0.011
Semaine 3 (j42-49)								
Poids	2304	2292	2345	2355	***0.017***	0.965	0.587	19.9
GMQ	65.9	64.8	66.1	64.7	0.972	0.375	0.892	1.36
CMJ	141.4	143.4	136.5	138.0	***0.012***	0.356	0.915	1.85
IC	2.147	2.214	2.064	2.138	***0.005***	***0.012***	0.891	0.025
Globale (j0-49)								
GMQ	46.5	46.0	47.2	47.2	***0.029***	0.545	0.517	0.38
CMJ	85.2	84.5	82.1	83.0	***0.001***	0.868	0.176	0.60
IC	1.833	1.836	1.741	1.761	***0.000***	***0.031***	0.107	0.005
Rendements								
(% du poids vif)								
carcasse	70.2	69.6	70.0	70.0	0.783	0.251	0.231	0.18
Filets	18.2	17.7	17.9	18.0	0.906	0.335	0.142	0.12
Cuisses	24.3	24.2	24.2	24.1	0.548	0.284	0.888	0.10
Gras	1.45	1.47	1.55	1.44	0.660	0.491	0.321	0.046

EFFET DE DEUX PHYTASES CHEZ DES ANIMAUX NOURRIS AVEC UN ALIMENT DEPLETE EN MINERAUX, ENERGIE ET ACIDES AMINES

Xavière Rousseau[1] and Gilson A. Gomes[2]

[1]AB VISTA, 3 Woodstock Court, Marlborough, SN8 4AN, United Kingdom

Xaviere.rousseau@abvista.com

RÉSUMÉ

Même si l'utilisation des phytases est une pratique courante il y a encore des opportunités pour optimiser leur utilisation en définissant une dose adéquate via l'analyse des phytates et en tirant profit des bénéfices extra-phosphoriques. Un total de 828 poussins Ross 308 males ont reçus un des 7 traitements alimentaires : contrôle positif (CP), formulé au besoin ; un second contrôle positif avec une dose de 500FTU/kg de phytase (PC500) et formulé en prenant compte la matrice minérale correspondante ; un contrôle négatif (NC) réduit de 0.22% Pdispo, 0.24% Ca, 0.05% Na, 75 kcal/kg EMEA, 0.025% dLys et autres acides aminés utilisé comme aliment de base auquel a été ajoutée l'une des 2 phytases (PhyQB et PhyAP) à 750 et 1500 FTU/kg. Les aliments étaient à base de blé et maïs, distribués sous forme de granulés et ad libitum. La mortalité a été enregistrée quotidiennement et le % de survie calculé. Le poids vif (PV), le gain moyen quotidien (GMQ) et la consommation moyenne journalière (CMJ), l'indice de consommation corrigé par la mortalité (IC) et par le poids (IC corrigé) ont été calculés. Les données ont été soumises à une ANOVA (% survie analysé par Chi-square) et les moyennes comparées en utilisant le test de Student ($P<0,05$). De plus, des contrastes orthogonaux linéaires et logarithmiques ont été utilisés avec le CN et les 2 doses de phytase en considérant les valeurs analysées d'activité phytasique. Les traitements n'ont pas modifié le % de survie quelle que soit la période de croissance ($P>0.05$). Les animaux nourris avec le CN ont des performances réduites. Les 2 phytases ont permis d'améliorer les performances de façon linéaire et logarithmique avec les contrastes logarithmiques ayant les meilleurs ajustements ($P<0.05$). Considérant les régressions logarithmiques, PhyQB montre une pente plus accentuée comparée à PhyAP sur le PV, GMQ et la CMJ. L'IC corrigé tend à être influencé par les traitements ($P=0,06$), la PhyQB étant la seule phytase capable d'améliorer linéairement l'IC corrigé ($P<0,05$). En conclusion, PhyQB était la seule phytase permettant de retrouver des performances similaires au CP quand elle est supplémentée à 1500 FTU/kg au CN.

ABSTRACT

Effect of two commercially available phytases, supplemented at two different dose rates, on performance of broilers fed diets reduced in minerals, energy, and amino acids

Even if the use of phytase in broiler diets is ubiquitous, there is still opportunity to optimize its usage through defining best dose rate via phytate-P analysis and taking advantage of the extra-P benefits of phytase supplementation thereby reducing broiler production cost. Eighty hundred and twenty-eight male day-old Ross 308 were assigned to 7 treatments as follows: Positive control (PC), formulated to be nutritionally adequate in all nutrients; another positive control diet was also added to the trial with the inclusion of 500 FTU/kg PhyQB (PC500) and formulated considering mineral matrix contribution; a negative control diet (NC) reduced by 0.22% avP, 0.24% Ca, 0.05% Na, 75kcal/kg AME, 0.025% dLys and other amino acids was fed and used as basal to which 2 commercially available phytases (PhyQB and PhyAP) were supplemented at 750 or 1,500 FTU/kg. Diets were wheat and corn based, fed as pellet, and feed and water provided *ad libitum*. Mortality was recorded daily, with livability being calculated. Body weight (BW), average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI), mortality corrected feed conversion ratio (FCR) and body weight corrected FCR (bwcFCR) were calculated. Data was submitted to ANOVA (Livability analyzed using Chi-Square) and means separated using Student's T-test ($P<0.05$). Additionally, linear and logarithmical orthogonal contrasts were tested using the NC, and the 2 different doses of each phytase tested, taking into consideration the analyzed values of phytase in the feed. Livability was not affected by treatments ($P>0.10$). Birds fed the NC diet showed reduced performance during the whole trial ($P<0.05$). Both phytases improved performance of birds in a linear and logarithmical way, with the logarithmical contrasts usually yielding the best adjustment to the data ($P<0.05$). When looking at the logarithmical regressions, PhyQB showed a steeper slope when compared to PhyAP on BW, ADG and ADFI for all ages. bwcFCR tended to be influenced by treatments ($P=0.06$), and PhyQB was the only phytase capable to linearly improves bwcFCR ($P<0.05$). In conclusion, PhyQB was the only phytase to recover performance to similar levels of PC fed birds when supplemented at 1500 FTU/kg on the NC diet.

INTRODUCTION

La supplémentation en phytase est devenue une pratique courante qui a permis de diminuer l'apport en phosphates inorganiques dans nos formules d'aliments mais aussi de réduire l'excrétion de phosphore. Associé à de nouvelles générations de phytases, avec une meilleure stabilité face au process de fabrication des aliments, une meilleure connaissance du substrat a permis d'en optimiser leur utilisation. En effet, les phytates ne sont pas seulement une source de phosphore difficilement disponible mais sont aussi considérés comme facteur anti-nutritionnel pouvant lier les minéraux et réduire la digestibilité des protéines et de l'amidon. L'intérêt d'atteindre une hydrolyse maximale des phytates présents dans l'aliment représente donc un avantage non négligeable pour améliorer l'efficacité digestive et par conséquent l'intégrité intestinale (Bedford and Apajalahti, 2021). La déphosphorylation complète des phytates (IP6) résulte en une production d'inositol (IP1) et de hauts niveaux de phytase ont montré de façon constante une augmentation de la concentration en inositol dans le digesta et le sang chez le poulet (Walk et al., 2014) et le porc (Cowieson et al., 2013). Cette augmentation est corrélée à une amélioration des performances de croissance et une diminution des scores les plus sévères de défauts de qualité des filets (Greene et al.,2020). L'utilisation de hautes doses de phytase permet aussi de répondre à un contexte où la disponibilité et le prix des matières nous incitent à trouver des alternatives permettant de réduire le cout alimentaire sans impacter les performances. En effet, l'utilisation de hautes doses de phytase permet une valorisation nutritionnelle plus importante qui va dépendre de la quantité de substrat (phytate) mais aussi de l'affinité de la phytase à hydrolyser les différentes formes de phytates. L'objectif de cet essai était donc d'évaluer la réponse de poulets de chair à l'incorporation de 2 phytases commercialement disponibles (PhyQB et PhyAP) à deux doses différentes (750 et 1500 FTU/kg).

1. MATERIELS ET METHODES

Un total de 828 poussins, mâle, de souche Ross 308 ont été placés dans 92 parquets de 9 animaux par parquet. Les animaux ont été nourris suivant 3 phases : démarrage de 0 à 10j (aliment miette) ; croissance (11-24j) et finition (25-38j). Les aliments croissance et finition ont été distribués sous forme de granulés et distribués avec l'eau *ad libitum*. Les 7 traitements expérimentaux (Tableau 2) consistaient en 1) un contrôle positif (PC) sans phytase formulé pour couvrir l'ensemble des besoins nutritionnels 2) un contrôle positif contenant 500 FTU/kg de PhyQB (PC500) avec la valorisation matricielle minérale qui y est associée 3) un contrôle négatif (NC) avec une réduction matricielle suivant la matrice recommandée par le fournisseur à 1500FTU/kg de PhyQB (Quantum Blue, AB Vista, Marlborough, UK) 0.22% P dispo, 0.24% Ca, 0.05% Na, 75kcal/kg EMA, 0.025% Dig lys et autres acides aminés) 4) NC + 750 FTU/kg PhyQB 5) NC+1500FTU/kg PhyQB 6) NC+750FTU/kg PhyAP 7) NC+1500 FTU/kg PhyAP. Les régimes 1 à 3 ont été testés dans 12 parquets par régime alors que les régimes 4 à 7 ont été testé dans 14 parquets par régime. Le poids vif (PV) a été relevé à chaque changement d'aliment, le gain moyen quotidien (GMQ), la consommation moyenne journalière (CMJ) ont été calculé pour chaque phase de croissance. L'indice de consommation calculé et corrigé pour la mortalité (IC) et par le poids (IC corrigé). L'indice d'efficacité de production européen (EPEF) a également été calculé. Les données ont été analysées *via* une ANOVA et les moyennes séparées par un test de Student excepté la mortalité qui a été analysée par un test de Chi-deux. Une analyse de contrastes orthogonaux linéaires et logarithmiques a été effectuée en utilisant le NC et les deux doses de phytase de chacune des 2 phytases en considérant les valeurs analysées d'activité phytasique. La significativité a été acceptée au seuil de $P \leq 0.05$ alors que les tendances seront discutées quand $P < 0.10$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les recouvrements de l'activité phytasique dans les différents aliments ont été calculés et étaient plus faibles qu'attendu surtout pour les phases de finition (données non montrées).

La mortalité (Tableau 1) n'a pas été affecté par les traitements expérimentaux quelle que soit la phase de croissance ($P > 0.10$). Le NC étant diminué uniquement pour les minéraux, en conservant un équilibre entre les nutriments, il n'est pas étonnant de ne pas voir d'effet sur la mortalité.

En revanche, le NC a affecté négativement les performances de croissance (PV, GMQ et CMJ) tout au long de l'essai ($P < 0.05$) alors que l'indice tend à être détérioré uniquement jusque 10 jours d'âge ($P = 0.09$).

Les deux phytases (PhyQB et PhyAP) permettent d'améliorer les performances (PV, GMQ, CMJ) pour toutes les phases de croissance de façon linéaire et logarithmique (Figure 1). Cependant les contrastes logarithmiques présentent les meilleurs ajustements avec des valeurs plus faibles de l'erreur standard à la moyenne et un t-ratio plus élevée (données non montrées). Si on compare les pentes des équations logarithmiques pour le poids, le GMQ et la CMJ, la PhyQB donne lieu à une pente plus importante comparée à celle de PhyAP (Figure 1) pour toutes les phases de croissance. Ce résultat indique que la capacité d'hydrolyse de la PhyQB est plus élevée que celle de la PhyAP pour ces critères de performances.

Les deux phytases ont amélioré l'EPEF comparé au NC ($P < 0,05$). L'IC corrigé tend à être influencé par les traitements alimentaires ($P = 0,06$) avec la PhyQB

étant la seule phytase capable d'améliorer linéairement l'indice corrigé (Figure 1B ; P<0,05). Les deux phytases améliorent le % de cendres tibiales et ce de façon linéaire et logarithmique comparé au NC à 24 et 38 jours (données non montrées). Les données de performance de croissance présentées dans cet article supportent la matrice nutritionnelle de PhyQB à haute dose. De plus, ces données démontrent aussi que toutes les phytases ne sont pas similaires quant à leur capacité à hydrolyser les phytates.

CONCLUSION

L'utilisation de hautes doses de phytase est une des options permettant de réduire le coût alimentaire et d'améliorer les performances de croissance. Cependant, l'application de valeurs nutritionnelles ne peut se faire sans connaître le niveau de phytates des aliments et la capacité d'hydrolyse de la phytase concernée et cela est d'autant plus vrai lors de l'application de hautes doses de phytase. De plus, si, dans cet article seules les performances de croissance sont présentées les données de minéralisation osseuse ont été analysés ainsi que les défauts de qualité des filets (white striping et woody breast) qui confirment et supportent l'intérêt multiple de l'utilisation de hautes doses de phytase.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bedford and Apajahlati, 2021 journal of The Science of Food and Agriculture (Nov 2021)
Cowieson et al., 2013 Feedstuffs pp 12-13 Farm Progress
Greene et al.,2020 Frontiers in Veterinary Science vol 7 , Article 458
Walk et al., 2014 Poultry Sci. 93:1172-1177

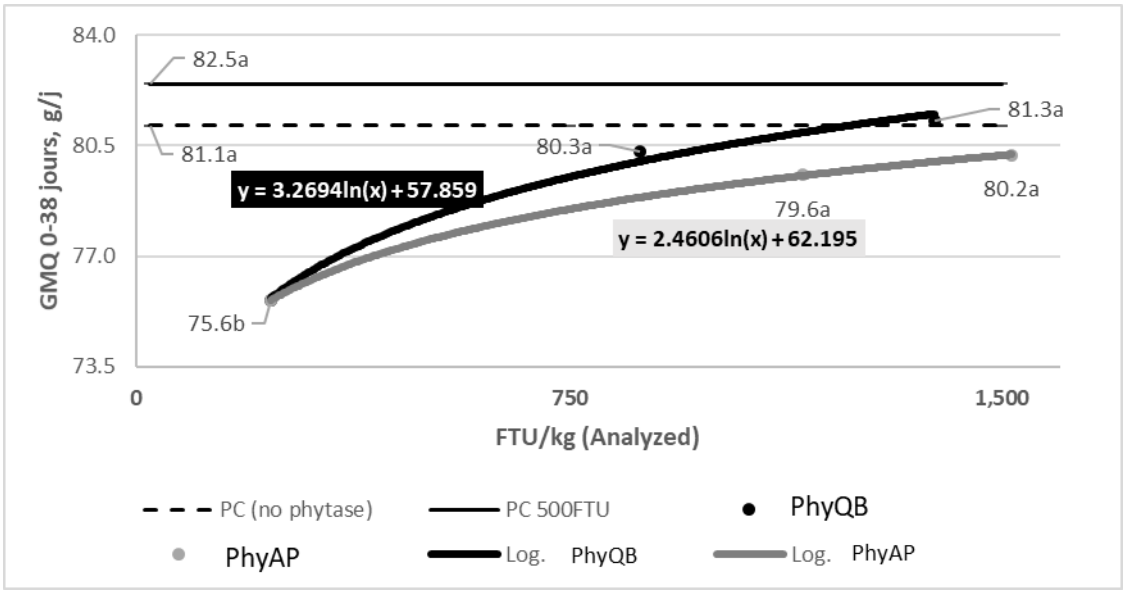
Tableau 1. Effet des 2 phytases PhyQB et PhyAP supplémentées à 2 doses (750 et 1500FTU/kg) sur les performances de poulets nourris avec un aliment réduit en minéraux, énergie et acides aminés

	PC	PC (PhyQB 500)	NC	PhyQB, FTU/kg		PhyAP, FTU/kg		SEM	ANOVA P-Value	Contrastes P-Value			
				750	1,500	750	1,500			linéaire		Log	
	0-10 days									**PhyQB**	**PhyAP**	**PhyQB**	**PhyAP**
Poids vif, g/animal	310ab	311ab	285c	307b	315a	306b	309ab	3.82	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
GMQ, g/j	26.6a	26.7a	24.1b	26.5a	27.3a	26.5a	26.5a	0.49	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
CMJ, g/j	28.7a	28.4a	26.6b	28.9a	29.2a	28.7a	28.9a	0.75	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
IC, g/g	1.08ABC	1.07C	1.11A	1.08ABC	1.07BC	1.09ABC	1.09AB	0.01	0.09	0.01	0.36	0.02	0.28
Survie, %	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	-	1.00	-	-	-	-
	0-24 days												
Poids vif, g/animal	1371a	1354ab	1210d	1324bc	1362a	1322c	1323c	11.3	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
GMQ, g/j	54.6a	54.7a	48.5c	53.0b	54.7a	53.6ab	52.9b	0.48	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
CMJ, g/j	68.4a	68.2a	63.9b	70.0a	70.0a	68.9a	69.4a	0.76	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
IC, g/g	1.25	1.25	1.30	1.32	1.28	1.30	1.31	0.01	0.22	0.38	0.73	0.62	0.84
Survie, %	99.1	98.1	100.0	100.0	99.2	100.0	100.0	0.48	0.62	-	-	-	-
	0-38 days												
Poids vif, g/animal	3216ab	3246a	3000c	3208ab	3231ab	3160b	3191ab	58.0	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
GMQ, g/j	81.1a	82.5a	75.6b	80.3a	81.3a	79.6a	80.2a	1.74	<0.01	0.03	<0.01	<0.01	<0.01
CMJ, g/j	114.4a	116.4a	107.5b	116.8a	118.4a	115.7a	115.4a	1.59	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
IC, g/g	1.41	1.41	1.42	1.46	1.43	1.45	1.44	0.02	0.22	0.49	0.20	0.72	0.25
Survie, %	98.1	97.2	97.2	99.2	98.4	98.4	99.2	1.26	0.82	-	-	-	-
EPEF	577a	601a	523b	564a	571a	571a	571a	18.1	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01
IC corrigé, g/g	1.41BC	1.39C	1.48A	1.46AB	1.41BC	1.46AB	1.44ABC	0.04	0.06	0.04	0.27	0.06	0.30

Les moyennes avec des lettres différentes sur une même ligne sont significativement différente ($^{a-c}$ P≤0.05 ; $^{A-C}$ P≤0.10)

Figure 1 : Effet des deux phytases (PhyQB et PhyAP) supplémentées à 2 doses différentes (750 et 1500 FTU/kg) sur A) le gain moyen quotidien (GMQ) et B) l'indice de consommation corrigé (IC corrigé)

A)



B)

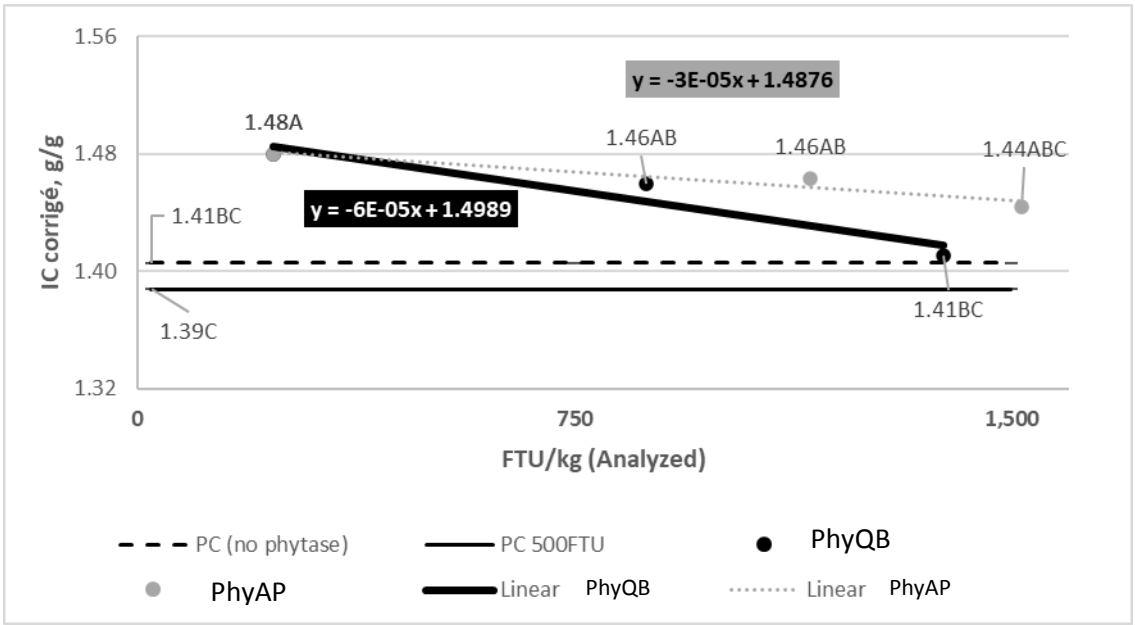


Tableau 2. Composition des aliments expérimentaux de base pour les différentes phases de croissance (démarrage, croissance et finition)

	PC			PC (QB 500)			NC		
Composition, g/kg	**Démarrage (0-10j)**	**Croissance (11-24j)**	**Finition (25-38j)**	**Démarrage (0-10j)**	**Croissance (11-24j)**	**Finition (25-38j)**	**Démarrage (0-10j)**	**Croissance (11-24j)**	**Finition (25-38j)**
Blé	288	325	347	305	344	366	337	378	404
Maïs	300	300	300	300	300	300	300	300	300
Ttx de colza	25.0	35.0	35.0	25.0	35.0	35.0	25.0	35.0	35.0
Ttx de Soja	295	230	198	292	226	194	281	214	179
Ttx de Tournesol	25.0	35.0	35.0	25.0	35.0	35.0	25.0	35.0	35.0
Huile de colza	27.8	20.5	26.5	22.9	17.8	23.7	7.33	8.99	14.8
Gras animal		20.5	26.5		17.5	23.5		9.00	14.5
Carbonate	8.31	6.81	6.14	7.00	5.51	4.84	6.46	4.97	4.29
MCP; HCl	12.5	10.4	9.45	5.87	3.79	2.88	2.92	0.83	
Sel	2.35	1.99	2.05	2.32	1.95	2.01	2.30	1.93	1.95
Bicarbonate de Na	2.83	2.66	2.24	1.60	1.45	1.04	1.07	0.93	0.57
Lysine HCl	3.25	3.21	3.01	3.28	3.28	3.07	3.21	3.21	3.11
DL Methionine	2.92	2.39	2.16	2.87	2.36	2.12	2.29	1.77	1.56
L Threonine	1.43	1.18	1.00	1.42	1.19	1.00	1.00	0.77	0.63
L Valine	0.09			0.06					
Quantum Blue 10G				0.04	0.04	0.04			
Signis	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Vit-Min Premix	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Farine de blé	0.41	0.02	0.41	0.36	0.08	0.47	0.54	0.30	0.86
Nutriments, % (sauf si indiqué)	**PC**			**PC (QB 500)**			**NC**		
	Starter (0-10d)	**Grower (11-24d)**	**Finisher (25-38d)**	**Starter (0-10d)**	**Grower (11-24d)**	**Finisher (25-38d)**	**Starter (0-10d)**	**Grower (11-24d)**	**Finisher (25-38d)**
EMA, kcal/kg	3,000	3,100	3,200	3,000	3,100	3,200	2,925	3,025	3,125
Protéine brute	22.7	20.9	19.7	22.8	20.9	19.7	22.6	20.8	19.4
Calcium	0.80	0.70	0.65	0.80	0.70	0.65	0.56	0.46	0.41
P dispo	0.40	0.35	0.33	0.40	0.35	0.33	0.18	0.13	0.11
Na	0.18	0.16	0.15	0.18	0.16	0.15	0.129	0.109	0.099
dLys	1.23	1.1	1.01	1.23	1.1	1.01	1.205	1.075	0.985
dM+C	0.913	0.832	0.784	0.913	0.832	0.784	0.857	0.776	0.728
dThr	0.826	0.737	0.677	0.826	0.737	0.677	0.777	0.688	0.628
dIle	0.826	0.746	0.696	0.828	0.746	0.696	0.82	0.738	0.683
dVal	0.923	0.838	0.788	0.923	0.839	0.789	0.911	0.833	0.777
dArg	1.316	1.18	1.092	1.316	1.177	1.089	1.297	1.158	1.06
dTrp	0.245	0.223	0.208	0.246	0.223	0.208	0.243	0.22	0.204

INTERETS DE LA SELECTION ET DES TRAITEMENTS TECHNOLOGIQUES DES GRAINES DE LIN A DESTINATION DE LA VOLAILLE

Guillevic Mathieu[1], Lessire Michel[2], Germain Antoine[1], Juin Hervé[3], Chesneau Guillaume[1]

1 VALOREX,35210 Combourtillé, France
2 UMR BOA, INRA, 37380 Nouzilly, France
3 UE EASM, INRA, 17700 Surgères, France

m.guillevic@valorex.com

RÉSUMÉ

Les graines de lin sont une source reconnue en acides gras oméga 3 et présentent des intérêts nutritionnels (qualité des produits animaux) et physiologiques (performances des reproducteurs). Cependant, elles sont de qualités hétérogènes, peu digestibles et nécessitent des traitements technologiques préalables pour une meilleure valorisation chez les volailles. L'objectif de ce travail consiste à comparer différentes approches combinant la sélection de variétés à teneur réduite en mucilages ainsi que le décorticage des graines. Pour cela, nous avons déterminé la digestibilité de mélanges oléo-protéagineux à base de lin sélectionnés ou non (mucilages), traités thermiquement avec ou sans décorticage préalable (graine *vs.* amande) ; puis évalué les impacts zootechniques de graines sélectionnées. Comparativement aux graines standards thermiquement traitées, la sélection du lin accroît l'EMAn et le CUD N de 18 % ; l'addition d'une étape de séparation du tégument accroît le CUD N de 26 %. La digestibilité des acides aminés (Met, Lys, Thr, Val), par la sélection du lin, est accrue de 25 à 45 % ; la séparation du tégument augmente de 39 à 79 % leur valorisation digestive. Les essais zootechniques confirment les résultats de digestibilités. L'indice de consommation est identique (témoin 1,46 ; lin 1,47) ; le ratio eau/aliment consommé, la qualité des litières et la notation des pododermatites sont similaires. La combinaison d'un approvisionnement en graines de lin spécifiques, couplés à des traitements technologiques adaptés conduit à une hausse significative de la digestibilité des nutriments. Ces valeurs nutritionnelles, jusqu'à lors inégalées pour ces graines, permettent de produire des poulets aux qualités intrinsèques améliorées répondant aux besoins des filières de différenciation tout en veillant à maintenir leurs performances de croissances et de santé.

ABSTRACT

Interest of selection and technological treatments of flax seeds for poultry

Linseed is a well-known source of omega 3 fatty acids and has nutritional (quality of animal products) and physiological (performance of breeding stock) interests. However, their quality is heterogeneous, poorly digestible and requires technological treatments for a better valorisation in poultry. The objective of this work is to compare different approaches combining the selection of varieties with reduced mucilage content and the dehulling of the seeds. To achieve this, we determined the digestibility of mixtures of selected (mucilages) or unselected linseed, processed with or without dehulling; then we evaluated the zootechnical impacts of selected and processed linseed. Compared to standard heat-processed seeds, selection of linseed increases EMAn and CUD N by 18%; the addition of a tegument separation step increases CUD N by 26%. The digestibility of amino acids (Met, Lys, Thr, Val), by linseed selection, is increased by 25 to 45%; the separation of the tegument of the latter increases their digestive valorisation by 39 to 79%. The zootechnical trials confirm the digestibility results. The feed conversion ratio is identical (control 1.46; linseed 1.47); the water/feed ratio; the quality of the litter and the pododermatitis rating are similar. The combination of a specific linseed supply, combined with adapted technological treatments, leads to a significant increase in the digestibility of nutrients. These nutritional values, unequalled until now for these seeds, make it possible to produce broilers with improved inherent qualities that meet the requirements of differentiation chains sector while ensuring their growth and health performances are maintained.

INTRODUCTION

Les graines de lin sont une source reconnue en acides gras oméga 3 aussi bien pour leur capacité à augmenter la qualité nutritionnelle des produits animaux (Baéza et al., 2015a ; Baéza et al. 2015b ; Baéza et al., 2021), que pour leurs propriétés physiologiques améliorant les performances des reproducteurs ainsi que celles de leur descendance (Cherian, 2015 ; Saber et al., 2019).
Cependant, ces graines peuvent être de qualités hétérogènes tant pour leurs caractéristiques nutritionnelles comme la matière grasse et les oméga 3 que pour leurs teneurs en facteurs antinutritionnels comme les polysaccharides non amylacés représentés par les mucilages ainsi que les glycosides cyanogènes (AFZ, 2021 ; Bhatty, 1995). De plus, ces graines sont peu digestibles et nécessitent un traitement technologique préalable dont l'efficacité est variable selon la nature et l'intensité des procédés déployés (Kajla et al., 2015 ; Noblet et al., 2008 ; Oomah et Mazza, 1998). Ainsi, la conjonction de ces facteurs peut conduire à une baisse des valorisations digestives et métaboliques (croissance, santé, nutritionnelle) par les volailles (Ajuyah et al., 1991 ; Lee et al., 1991 ; Ortiz et al., 2001 ; Alzueta et al., 2003). En effet, ces dernières ne disposent pas d'enzymes spécifiques aux mucilages, qui forment alors une barrière physique et réduiront l'efficacité des enzymes digestives (Lee et al., 1995).
L'objectif de ce travail consiste à étudier l'effet de modalités végétales (teneur réduite en mucilages) et technologiques (décorticage) de graines de lin sur leur valorisation à destination de la filière avicole.

1. MATERIELS ET METHODES

La matière première à tester est un mélange composé de graines oléo-protéagineuses Tradilin®. Pour l'essai de digestibilité, il renferme 70 % lin + 30 % féverole et pour l'essai de performances zootechniques : 50 % lin + 50 % féverole. Le lin standard est comparé au lin sélectionné pour sa richesse en oméga 3 et sa faible teneur en mucilages ; la féverole est sélectionnée pour sa faible teneur en vicine convicine (tableau 1). Ce mélange de graines a été technologiquement traité de manière spécifique (broyage avec ou sans décorticage préalable, maturation enzymes endogènes, cuisson-extrusion), afin d'optimiser sa valorisation par les volailles, selon le savoir-faire breveté de VALOREX (Chesneau et al., 2017).

1.1. Essai de digestibilité *in-vivo*

L'essai a été mené sur des poulets mâles ROSS-PM3 en croissance (10 poulets en cages individuelles par modalité alimentaire) en substituant l'aliment de base, à hauteur de 15 %, par les mélanges cuits à tester : (i) lin standard, (ii) sélectionné, (iii) sélectionné avec addition d'une étape de décorticage. Les valeurs de digestibilité des mélanges oléo-protéagineux ont été calculées par différence à partir des résultats de la base et des aliments expérimentaux, en considérant l'additivité des constituants tel que décrit par Carré et al. (2013). Les valeurs d'énergie métabolisable (EM) sont exprimées en EM apparente à bilan azoté nul (EMAn) et les valeurs de digestibilité de l'azote et des acides aminés (méthionine, lysine, thréonine, valine) en digestibilité apparente.

1.2. Essai de performances de croissance

L'essai a été mené sur des poulets mâles ROSS-PM3. Le mélange de graines de lin / féverole, sélectionnées et traitées, était incorporé à hauteur de 4,8 % dans des rations, croissance et finition, iso-nutritionnelles en tenant compte des valeurs préalablement déterminées dans les essais de digestibilité menés sur les poulets (tableau 2).
Les poulets ont été nourris à volonté avec les mêmes régimes de démarrage (0-12 jours). Au 12ème jour, les animaux ont été répartis en 2 groupes (6 répétitions x 45 poulets) de poids homogènes. L'eau et les aliments granulés étaient distribués à volonté. A l'issue de la phase de croissance (J12-22) et de finition (J22-33) les animaux ont été pesés individuellement et la consommation totale par parquet a été mesurée. L'indice de consommation, et le ratio eau/aliment par parquet ont été calculés. La mortalité ainsi que la mesure de pododermatites selon la grille en 5 scores de Michel et al. (2012) ont été déterminés. Pour chaque traitement, 12 animaux (2 par parquet) ont été prélevés et abattus. Les carcasses ont été effilées puis stockées en chambre de ressuage une nuit à +2°C. Le lendemain, elles ont été pesées puis découpées afin de déterminer le rendement en filet (*Pectoralis major* et *minor*).

1.3. Statistiques

Les données ont été analysées par ANOVA au seuil de significativité de 5 % (SAS, Proc GLM) en prenant en compte l'effet du régime expérimental. Pour la digestibilité, l'unité expérimentale était la cage ; pour les performances de croissance, le parquet ; tandis que pour les critères de rendement, l'animal.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Essai de digestibilité *in-vivo*

Par rapport aux graines standards, la sélection de graines spécifiques conduit à une hausse de la valorisation nutritionnelle : +18 % énergie et azote ($p<0,05$). Le décorticage, outre la concentration en nutriments d'intérêts comme les lipides et protéines, permet une hausse supplémentaire de la valorisation de l'azote de 7 %, soit +26 % face à la graine standard ($p<0,05$) comme présenté dans la figure 1. La digestibilité des acides aminés du lin est accrue significativement ($p<0,05$), à l'exception de la Met, en passant pour la Lys de 59,0 à 71,4 et 83,0 % ; pour la Thr de 41,4 à 56,6 et 74,1 % ; pour la Val de 46,7 à

67,6 et 79,4 % pour, respectivement, la graine standard, sélectionnée et sélectionnée décortiquée (tableau 3). Ces hausses s'expliquent, notamment, par la réduction des mucilages. En effet, ces fibres perturbent digestion et absorption des nutriments et stimulent le microbiote, créant ainsi une concurrence sur la disponibilité en nutriments pour l'hôte.

2.2. Essai de performances de croissance

Cet essai a confirmé les résultats de digestibilité sur l'intérêt de la sélection variétale combinée avec un traitement de la graine de lin chez le poulet.

Les indices de consommation sont non significativement différents sur la période totale J1-33 : 1,456 contre 1,467 pour le régime lin ; ainsi que sur la période d'incorporation du lin J12-33 : 1,563 contre 1,570 pour le régime lin. Le ratio eau/aliment consommé, sur la période J12-33, est lui aussi similaire : 2,0 contre 2,1 pour le régime lin. De plus, les litières sont de même qualité et n'ont pas entrainé de pododermatites puisque les notations sont équivalentes : 0,15 contre 0,13 pour le régime lin. La mortalité (+ éliminés) est, elle aussi, identique entre les deux lots : 5,9 % contre 4,4 % pour le régime lin. Enfin, le rendement des filets est semblable : 19,5 % contre 19,7 % pour le régime lin (tableau 4).

Malgré une littérature faisant état d'une altération des performances des poulets lorsque des graines de lin sont incorporées dans la ration (Ajuyah et al., 1991 ; Lee et al., 1991 ; Ortiz et al., 2001), ces travaux démontrent, et se joignent à d'autres (Alzueta et al., 2003), qu'il existe des solutions, tournées vers la réduction des mucilages, pour améliorer la valeur nutritive des graines de lin, pour le maintien des performances de croissance, de santé et du rendement de la carcasse.

CONCLUSION

La combinaison d'un approvisionnement en graines de lin spécifiques à forte densité nutritionnelle, couplée à des traitements technologiques adaptés (broyage avec ou sans décorticage préalable, maturation enzymes endogènes, cuisson-extrusion) conduit à une hausse significative de la digestibilité des nutriments. Ces valeurs nutritionnelles, jusqu'alors inégalées pour ces graines oléagineuses, permettent de produire des poulets aux qualités intrinsèques améliorées répondant aux besoins des filières de différenciation tout en veillant à maintenir leurs performances de croissances et de santé.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre du programme de recherche PROLEVAL avec le soutien financier de la Banque Publique d'Investissement (BPI) au travers le programme d'investissements d'avenir "Projets de recherche et développement Structurants pour la Compétitivité (PSPC)".

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFZ, 2021. INRAE - CIRAD - AFZ. Feedtables.com.

Alzueta C., Rodriguez M.L., Cutuli M.T., Rebole A., Ortiz L.T., Centeno C., Trevino J., 2003. Brit Poult Sci, 44, 67-74.

Baeza E., Chartrin P., Lessire M., Meteau K., Chesneau G., Guillevic M., Mourot J., 2015a. Brit Poult Sci, 56, 748-754.

Baeza E., Chartrin P., Lessire M., Meteau K., Chesneau G., Guillevic M., Mourot J., 2015b. Brit Poult Sci, 56, 543-550

Baeza E., Lessire M., Chartrin P., Juin H., Meteau K., Guillevic M., Chesneau G., 2021. Brit Poult Sci, 62, 261-269.

Bhatty R.S., 1995. In: Flaxseed in Human Nutrition, pp. 22-45.

Carre B., Lessire M., Juin H., 2013. Animal, 7, 1246-1258.

Cherian G., 2015. J Anim Sci Biotechnol, 6, 28.

Chesneau G., Guillevic M., Germain A., Juin H., Lessire M., Enjalbert F., Burel C., Ferlay A., 2017. Brevet FR1760984.

Kajla P., Sharma A., Sood D.R., 2015. J Food Sci Technol, 52, 1857-1871.

Lee K., Olomu J.M., Sim J.S., 1991. Can J Anim Sci, 71, 897-903.

Michel V., Prampart E., Mirabito L., Allain V., Arnould C., Huonnic D., Le Bouquin S., Albaric O., 2012. Brit Poult Sci, 53, 275-281.

Noblet J., Jacquelin-Peyraud Y., Quemeneur B., Chesneau G., 2008. Journées Rech. Porcine, 40, 203-208.

Oomah B.D., Mazza G., 1998. Ind Crop Prod, 9, 29-37.

Ortiz L.T., Rebole A., Alzueta C., Rodriguez M.L., Trevino J., 2001. Brit Poult Sci, 42, 57-63.

Saber S.N., Kutlu H.R., 2020. Asian Austral J Anim, 33, 305-312.

Tableau 1. Composition (g/100g matière sèche) des graines de lin et de féverole

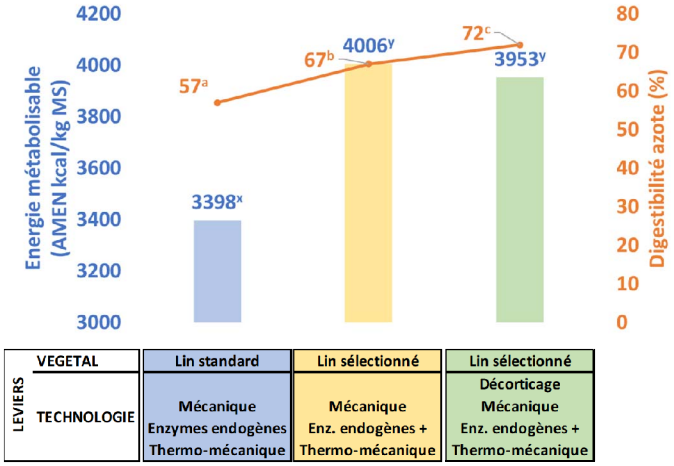
	STANDARD	SELECTIONNÉE
Graine de féverole		
Protéine	30,2	30,3
Vicine Convicine	7,2	0,2
Graine de lin		
Acides gras oméga 3	20,6	28,7
Mucilages	8,3	2,3

Tableau 2. Composition (g/kg) et caractéristiques nutritionnelles des régimes expérimentaux

	Aliment croissance		Aliment finition	
	TEMOIN	**LIN**	**TEMOIN**	**LIN**
Composition				
Maïs	437	183	250	243
Blé	200	350	448	350
Tourteau de soja	306	100	251	94
Tourteau de tournesol HP		138		115
Prodival® *		100		100
Gluten de maïs		19		
**Tradilin® ** **		**48**		**48**
Huile de soja	20	9	24	9
Huile de colza		14		12
DL-Méthionine	2,6	2,2	2,1	2,1
L-Lysine-HCl	2,3	4,1	2,4	3,4
L-Thréonine	0,8	1,2	0,9	1,0
L-Valine	0,3	0,4	0,3	0,4
Anticoccidien	0,5	0,5	0,5	0,5
Autre (prémix, minéraux, …)	31	31	21	21
Caractéristiques nutritionnelles				
Energie métabolisable (kcal/kg)	2950	2950	3000	3000
Protéines (g/kg)	205	208	191	190
LYS dig (g/kg)	11	11	10	10
MET+CYS dig (g/kg)	8,3	8,3	7,5	7,5
THR dig (g/kg)	7,4	7,4	6,7	6,7
TRP dig (g/kg)	2,2	2,1	2,1	1,9
Calcium (g/kg)	9	9	6,5	6,5
Phosphore disponible(g/kg)	4,5	4,5	3,2	3,2

* **Prodival®** : 90 % féverole + 10 % soja ; ** **Tradilin®** : 50 % lin + 50 % féverole ; graines spécifiques et traitements adaptés

Figure 1. Energie métabolisable et digestibilité de l'azote du mélange à base de graines de lin par le poulet



Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes entre elles.

Tableau 3. Digestibilité des acides aminés du mélange à base de graines de lin par le poulet

Levier VEGETAL	**Lin standard**	**Lin Sélectionné**	**Lin Sélectionné**	
Levier TECHNOLOGIE	**Mécanique Enzymes endogènes Thermo-mécanique**	**Mécanique Enz. endogènes + Thermo-mécanique**	**Décorticage Mécanique Enz. endogènes + Thermo-mécanique**	**P-value[1]**
Lysine	59,0 [a]	71,4 [b]	83,0 [c]	< 0,05
Thréonine	41,4 [a]	56,6 [b]	74,1 [c]	< 0,05
Méthionine	82,5 [a]	81,7 [a]	86,3 [b]	< 0,05
Valine	46,7 [a]	67,6 [b]	79,4 [c]	< 0,05

[1] Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes entre elles.

Tableau 4. Effet de l'introduction de graines oléo-protéagineuses dans la ration des poulets sur les performances de croissance, de santé et de rendement carcasse

	Unités	**TEMOIN**	**LIN**	**P-value**
Poids				
J12	g	369	362	NS
J22	g	921	908	NS
J33	g	1 734	1 756	NS
Consommation d'aliments				
J1 – J12	g	336	328	NS
J12 – J22	g	761	479	NS
J22 – J33	g	1 369	1 441	NS
J12 – J33	g	2 130	2 190	NS
Indice de consommation				
J1 – J12		1,025	1,028	NS
J12 – J22		1,381	1,377	NS
J22 – J33		1,695	1,694	NS
J1 – J33		1,456	1,467	NS
J12 – J33		1,563	1,570	NS
Performances de santé				
Mortalité	%	5,93	4,44	NS
Pododermatites	note 1 à 5	0,15	0,13	NS
Rapport eau/aliment J22 – J33		2,04	2,10	NS
Rendement carcasse				
Filet	% poids vif	19,55	19,67	NS

IMPACTS A COURT ET A MOYEN TERME D'UNE SUPPLEMENTATION PRECOCE EN XYLANASE-XOS SUR LE METABOLOME ET LE MICROBIOME CAECAL DES POULETS DE CHAIR

Vincent Jonchère[1], Françoise I. Bussière[2], Vahid Khaksar[1], Michel J. Duclos[1], Léa Cornaille[1], Nathalie Meme[1], Olivier Zemb[3], Christelle Hennequet-Antier[1], Catherine Schouler[2], Rodrigo Guabiraba-Brito[2] & Agnes Narcy[1]

[1]BOA, Université de Tours, INRAe, Centre Val de Loire, 37380 Nouzilly, France
[2]ISP, Université de Tours, INRAe, Centre Val de Loire, 37380 Nouzilly, France
[3]GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, 31320 Castanet□Tolosan, France
vincent.jonchere@inrae.fr

RÉSUMÉ

La période postnatale est une période de forte plasticité permettant une orientation précoce des fonctionnalités digestives. Les xylo-oligosaccharides (XOS), produits de l'hydrolyse des polysaccharides non amylacés (NSPs) par la xylanase (Xyl), sont des prébiotiques agissant sur le microbiote caecal. Dans ce travail, nous avons comparé les effets sur le métabolome et le microbiote caecal d'une supplémentation précoce (démarrage) ou tardive (croissance) d'un mélange de xylanase et XOS (Xyl.XOS) en présence d'un challenge infectieux à *E. tenella*.
Des poussins recevant un régime basal riche en NSP ont été répartis en quatre groupes : sans additif (J0-J22), avec ajout de Xyl.XOS en démarrage (J0-J9) ou en croissance (J10-J22) ou pendant toute la période (J0-J22). A partir de ce plan factoriel complet, les effets sur les performances ainsi que sur le métabolome et le microbiome caecal ont été évalués (J9 et J22). Lors de la période de démarrage, l'ajout du mélange Xyl.XOS a un effet positif sur la croissance. A J9, une diminution des acides gras à chaînes courtes (SCFAs) et des bactéries de la famille des *Lachnospiraceae*, productrices des SCFAs, a été observée dans les caeca des animaux supplémentés. A l'inverse, la supplémentation dans l'aliment démarrage seul augmente la production de SCFAs jusqu'à J22. Nous évaluons actuellement l'effet différé de cette supplémentation précoce sur le microbiote à J22. Enfin chez les animaux inoculés, la supplémentation tardive en Xyl.XOS réduit significativement les effets délétères de l'infection sur la croissance alors que la supplémentation précoce n'a pas eu d'effet détectable.
En conclusion, la supplémentation précoce en Xyl.XOS a un effet à court et moyen terme sur les métabolites et la croissance des animaux.

ABSTRACT

Differentiated short and medium term impacts of early Xylanase-XOS supplementation on caecal metabolome and microbiome in broiler

The postnatal period is critical for early development. Due to the great plasticity of the digestive tract, this period constitutes a unique window to orient the digestive phenotypes. Xylo-oligosaccharides (XOS) produced from the hydrolysis of non-starch polysaccharides (NSPs) by xylanase are prebiotics acting on the caecal microbiota. In this work, we compared the effects on metabolome and caecal microbiota composition of early (starter) or late (grower) supplementation with a mixture of xylanase and XOS (Xyl.XOS) with an E. tenella challenge.
Chicks fed a basal diet rich in NSPs were divided into four groups: without additive (D0-D22), with a supplementation of Xyl.XOS during the start-up period (D0-D9), the growth period (D10-D22), or during the entire period (D0-D22). Based on this full factorial design, effects on performance as well as on the metabolome and caecal microbiome were assessed (D9 and D22). During the start-up period, the addition of Xyl.XOS has a positive effect on growth. At D9, a decrease in Short Chain Fatty Acids (SCFAs) and *Lachnospiraceae*, producers of SCFAs observed in the caeca of supplemented animals with Xyl.XOS. In contrast, supplementation in the starter diet alone increased SCFA production until D22. We are actually evaluating the effect of this early supplementation on the microbiota at D22. Finally, animals inoculated with *E. tenella*, the supplementation with Xyl.XOS in grower reduced significantly the deleterious effects of infection on growth while early supplementation had no detectable effect.
In conclusion, early supplementation with Xyl.XOS has a short and medium term effect on the metabolites and growth of the animals.

INTRODUCTION

L'utilisation efficace de ressources alimentaires variées est un élément déterminant pour assurer la transition vers des systèmes d'élevage multi-performants, considérant la maitrise des impacts environnementaux et de la santé des animaux. Celle-ci repose sur le maintien d'un équilibre étroit entre la paroi digestive, le microbiote intestinal et les composés alimentaires. Dans ce contexte, il est important de proposer de nouvelles stratégies nutritionnelles afin de contrôler sur le moyen terme l'homéostasie digestive et de maintenir l'efficacité alimentaire tout en préservant le bien-être et la santé des animaux.

A l'éclosion, la plupart des fonctions physiologiques des oiseaux sont immatures. Au niveau digestif, le passage brutal à une alimentation solide exogène stimule le développement du système gastro-intestinal, des glandes annexes et s'accompagne de la mise en place du microbiote. Cette période précoce offre donc une fenêtre unique de plasticité pour orienter les fonctionnalités du tube digestif par la nutrition (Korotkova et al., 2005; Rubio, 2019). A ce jour, seules quelques d'études ont exploré cette question chez les oiseaux et sont pour la plupart anciennes et limitées à une description macroscopique et non exhaustive en termes de fonctions. Récemment, Baldwin et al. ont montré que des poussins inoculés immédiatement après l'éclosion avec des Lactobacilles montraient une modification durable de leur microbiote s'accompagnant d'une amélioration significative de leur poids à l'âge de 28 jours (Baldwin et al., 2018). Keerqin et al. ont également constaté que la supplémentation précoce en acides aminés exerçait un effet bénéfique et durable sur des poulets soumis par la suite à différents facteurs de stress en favorisant les familles Lactobacilles dans la partie inférieure de l'intestin grêle (Keerqin et al., 2017).

Les caractéristiques physicochimiques des aliments, dont notamment la teneur en polysaccharides non amylacés hydrosolubles (NSPs), sont essentielles pour permettre une bonne utilisation des ressources en élevage. Les NSPs sont de longs polymères complexes qui ne peuvent être dégradés par les enzymes endogènes des volailles et qui entrainent une diminution des performances liée à l'augmentation de la viscosité du digesta, de la sécrétion de mucus et des translocations bactériennes entrainant à terme une dysbactériose (Tellez et al., 2014). Dans ce contexte, l'utilisation de composés prébiotiques ou d'enzymes peuvent constituer de bonnes stratégies pour contrecarrer les effets négatifs des NSPs. Les prébiotiques sont des substances alimentaires qui stimulent sélectivement la croissance et l'activité de bactéries bénéfiques à la santé intestinale (Gibson et al., 2010). Par ceux-ci, les xylo-oligosaccharides (XOS) permettent d'orienter la microbiote commensal vers une production d'acides gras à chaînes courtes (SCFAs) avec des effets sur l'homéostasie digestive et les performances des poulets (Ribeiro et al., 2018; Dale et al., 2020). Cet apport en XOS peut être exogène ou induit par l'ajout de xylanase au régime alimentaire, enzyme qui hydrolyse les xylosidiques, constituant principales des NSPs, en XOS.

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les impacts à court et à moyen terme d'une supplémentation précoce d'un mélange de xylanase et de XOS (Xyl.XOS) chez des poussins de chair nourris avec un régime à base de blé et de seigle riche en NSPs favorisant le développement d'une dysbactériose intestinale. Les conséquences sur la croissance, les métabolites intestinaux et le microbiote sont évalués sur des animaux infectés ou non par un pathogène courant *Eimeria tenella*, parasite responsable de la coccidiose chez les volailles..

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Incubation des œufs, oiseaux, logement

Toutes les procédures expérimentales de cette étude ont été réalisées conformément aux directives européennes pour le soin et l'utilisation des animaux dans la recherche (Directive 2007/43/CE) et ont été approuvées par le comité d'éthique local. Les œufs à couver de poulets de chair Ross PM3 ont été désinfectés pour obtenir des oiseaux Exempt d'Organismes Pathogènes Spécifiés (EOPS). Après sexage, les poussins âgés d'un jour ont été répartis dans 16 parquets. Les oiseaux n'ont pas été vaccinés afin d'éviter tout agent externe modifiant l'activité de leur système immunitaire.

1.2. Design expérimental

Deux régimes alimentaires permettant de satisfaire les besoins des animaux ont été formulés pour la période de démarrage (J0 à J9) et de croissance (J10 au J22) sur une base de blé et de seigle. La moitié des animaux ont été infectés expérimentalement avec *E. tenella* à 16 jours d'âge. L'effet d'une supplémentation en un mélange de XOS et xylanase (Signis®, AB Vista, Marlborough, UK, 100g/tonne) pendant les phases de démarrage (de J0 à J9) et de croissance (J10 à J22) a été mesuré selon un plan factoriel complet en blocs aléatoires. La consommation d'aliment par parquet et le poids vif individuel ont été mesurés aux jours J0, J9, J16 et J22. De J0 à J9, huit parquets ont été affectés à l'un des deux régimes de démarrage (Ctrl, Xyl.XOS). À J9, 16 oiseaux par traitement ont été euthanasiés et les tissus collectés. De J10 à J22, la moitié des parquets de chaque régime de démarrage a reçu l'un des deux régimes croissance (Ctrl, Xyl.XOS). À J16, la moitié des animaux a été inoculée avec *E. tenella*. À la fin de l'expérience, 12

oiseaux par condition ont été euthanasiés et les tissus collectés.

1.3. Analyse du métabolome

Les échantillons de contenus caecaux ont été préparés selon le protocole décrit par Hauser et al. (Hauser et al., 2019). Brièvement, les spectres RMN 1H ont été obtenus sur un spectromètre Bruker Avance III HD 600 pour 21 métabolites.

1.4. Analyse du microbiome

Les échantillons microbiens ont été préparés et analysés selon la méthode d'Aliakbari (Aliakbari et al., 2021). Brièvement après extraction de l'ADN microbien, la région V3-V4 a ensuite été amplifiée à partir d'ADN génomique dilué avec les amorces F343 et R784. Les produits PCR résultants ont été purifiés et chargés sur une cartouche MiSeq d'Illumina suivant les recommandations du fabricant. Les données ont été analysées à l'aide du package DADA2 (Ombrello, 2020) et annotées avec le set de données Silva Dataset v138 (Quast et al., 2013).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Lors de la période de démarrage, l'ajout du mélange Xyl.XOS a eu un effet significatif sur la croissance à J9 (+3,2% GMQ, P=0,05 ; Fig.1A). Cet effet semble être associé à des modifications significatives des contenus caecaux, notamment une diminution des teneurs en acides gras à chaines courtes (SCFAs : acétate, P=0,03 ; Fig.1B ; propionate, P=0,02 données non montrés). L'étude du microbiote caecal par séquençage 16S indique une diminution significative d'une famille de bactéries, les *Lachnospiraceae* (Fig.1C), connues comme étant productrices de SCFAs (Vacca et al., 2020). Les effets bénéfiques de cette supplémentation précoce pourrait résulter de l'action de la xylanase par l'hydrolyse des NSPs et non d'une modification bénéfique de la composition du microbiote caecal et ces conséquences sur la production de SCFAs. Nous explorons actuellement si d'autres fonctionnalités du tractus digestif pourraient être à l'origine de ce gain de performances.

Chez les animaux inoculés, la supplémentation en Xyl.XOS à partir de J10 réduit significativement les effets délétères de l'infection sur la croissance (inoculation × croissance, P=0,03, +9.8% GMQ, Fig.2). En revanche, la supplémentation durant la période précoce n'a eu aucun mesurable sur la réponse des animaux à l'infection.

L'effet de la supplémentation dans l'aliment croissance sur les performances est dépendante d'une supplémentation dans l'aliment démarrage (démarrage × croissance, P=0,07, Fig.3A). La supplémentation en Xyl.XOS dans l'aliment croissance seul permet une amélioration significative des performances alors que la supplémentation dès la phase de démarrage permet de maintenir un niveau intermédiaire sur le moyen terme.

De manière intéressante, la supplémentation dans l'aliment démarrage conduit à une augmentation significative de la production des SCFAs à J22 (respectivement acétate, P= 0,03 ; butyrate, P= 0,04, Fig.3B et Fig.3C) et ce, indépendamment d'une supplémentation tardive. Ces résultats suggèrent que la supplémentation précoce en Xyl.XOS permettrait une orientation de la composition du microbiote, qui doit maintenant être confirmée par l'étude de la composition du microbiote (16S caecal). L'étude de la dégradation des polysaccharides dans l'iléon devrait contribuer à la compréhension des mécanismes sous-jacents.

CONCLUSION

En conclusion, la supplémentation précoce en Xyl.XOS a un effet positif sur la croissance des animaux davantage marquée durant la première période de vie (J0-J9). Cet effet bénéfique pourrait s'expliquer par l'action de la xylanase permettant la dégradation des NSPs et l'amélioration du transit alimentaire. A moyen terme, la supplémentation précoce en Xyl.XOS permet d'augmenter la production de SCFAs dans les caecas.
La supplémentation tardive a quant à elle un effet bénéfique sur les performances des animaux (J0-J22) mais qui dépend de la supplémentation précoce. Cette supplémentation tardive permet également de limiter les effets délétères d'une inoculation à *E. tennela* sur la croissance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aliakbari, A., O. Zemb, Y. Billon, C. Barilly, I. Ahn, J. Riquet, and H. Gilbert. 2021. Genetic relationships between feed efficiency and gut microbiome in pig lines selected for residual feed intake. J. Anim. Breed. Genet. 138:491–507.

Baldwin, S., R. J. Hughes, T. T. H. Van, R. J. Moore, and D. Stanley. 2018. At-hatch administration of probiotic to chickens can introduce beneficial changes in gut microbiota. PLoS One 13:1–14.

Craig, A. D., F. Khattak, P. Hastie, M. R. Bedford, and O. A. Olukosi. 2020. Xylanase and xylo- oligosaccharide prebiotic improve the growth performance and concentration of potentially prebiotic oligosaccharides in the ileum of broiler chickens. Br. Poult. Sci. 61:70–78 Available at http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2019.1673318.

Dale, T., I. Hannay, M. R. Bedford, G. A. Tucker, J. M. Brameld, and T. Parr. 2020. The effects of exogenous xylanase supplementation on the in vivo generation of xylooligosaccharides and monosaccharides in broilers fed a wheat-based diet. Br. Poult. Sci. 61:471–481 Available at https://doi.org/10.1080/00071668.2020.1751805.

Gibson, G. R., K. P. Scott, R. A. Rastall, K. M. Tuohy, A. Hotchkiss, A. Dubert-Ferrandon, M. Gareau, E. F. Murphy, D. Saulnier, G. Loh, S. Macfarlane, N. Delzenne, Y. Ringel, G. Kozianowski, R. Dickmann, I. Lenoir-Wijnkoop, C. Walker, and R. Buddington. 2010. Dietary prebiotics: current status and new definition. Food Sci. Technol. Bull. Funct. Foods 7:1–19.

Hauser, A., P. Eisenmann, C. Muhle-Goll, B. Luy, A. Dötsch, D. Graf, and P. Tzvetkova. 2019. Efficient extraction from mice feces for NMR metabolomics measurements with special emphasis on SCFAs. Metabolites 9.

Keerqin, C., S. B. Wu, B. Svihus, R. Swick, N. Morgan, and M. Choct. 2017. An early feeding regime and a high-density amino acid diet on growth performance of broilers under subclinical necrotic enteritis challenge. Anim. Nutr. 3:25–32 Available at http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2017.01.002.

Korotkova, M., C. Ohlsson, B. Gabrielsson, L. Å. Hanson, and B. Strandvik. 2005. Perinatal essential fatty acid deficiency influences body weight and bone parameters in adult male rats. Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids 1686:248–254.

Ombrello, A. K. 2020. Dada2. Encycl. Med. Immunol. 13:1–7.

Quast, C., E. Pruesse, P. Yilmaz, J. Gerken, T. Schweer, P. Yarza, J. Peplies, and F. O. Glöckner. 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Res. 41:590–596.

Ribeiro, T., V. Cardoso, L. M. A. Ferreira, M. M. S. Lordelo, E. Coelho, A. S. P. Moreira, M. R. M. Domingues, M. A. Coimbra, M. R. Bedford, and C. M. G. A. Fontes. 2018. Xylo-oligosaccharides display a prebiotic activity when used to supplement wheat or corn-based diets for broilers. Poult. Sci. 97:4330–4341 Available at http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey336.

Rubio, L. A. 2019. Possibilities of early life programming in broiler chickens via intestinal microbiota modulation. Poult. Sci. 98:695–706 Available at http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey416.

Tellez, G., J. D. Latorre, V. A. Kuttappan, M. H. Kogut, A. Wolfenden, X. Hernandez-Velasco, B. M. Hargis, W. G. Bottje, L. R. Bielke, and O. B. Faulkner. 2014. Utilization of rye as energy source affects bacterial translocation, intestinal viscosity, microbiota composition, and bone mineralization in broiler chickens. Front. Genet. 5:1–7.

Vacca, M., G. Celano, F. M. Calabrese, P. Portincasa, M. Gobbetti, and M. De Angelis. 2020. The controversial role of human gut lachnospiraceae. Microorganisms 8:1–25.

Figure 1. Effet à J9 d'une supplémentation précoce en Xyl.XOS sur les performances (A ; Gain moyen Quotidien), le métabolome caecal (B) et sa composition (C)

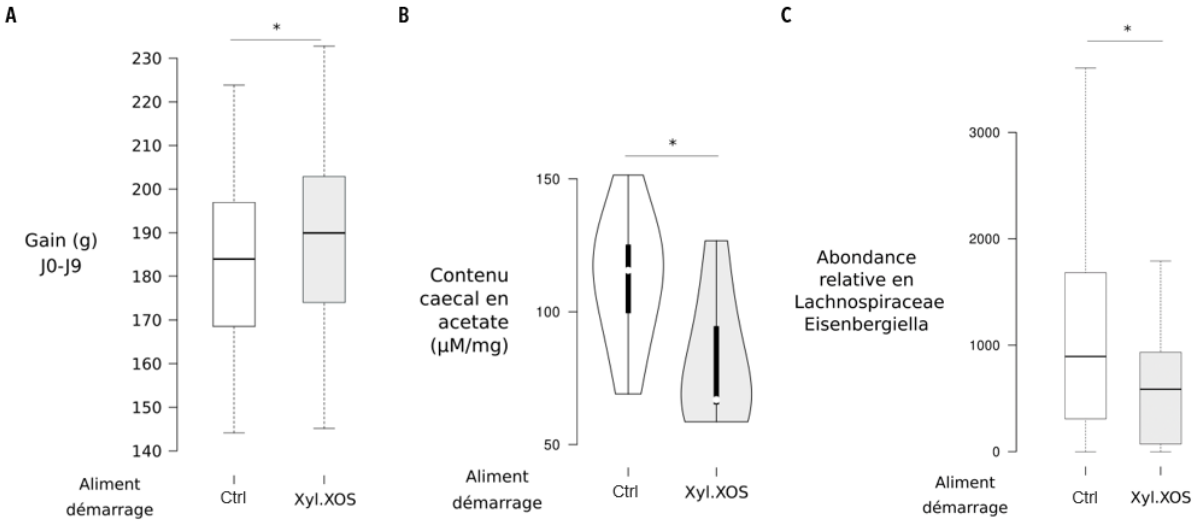


Figure 2. Effet à J22 d'une supplémentation tardive (J10-J22) en Xyl.XOS sur les performances suite à un challenge infectieux

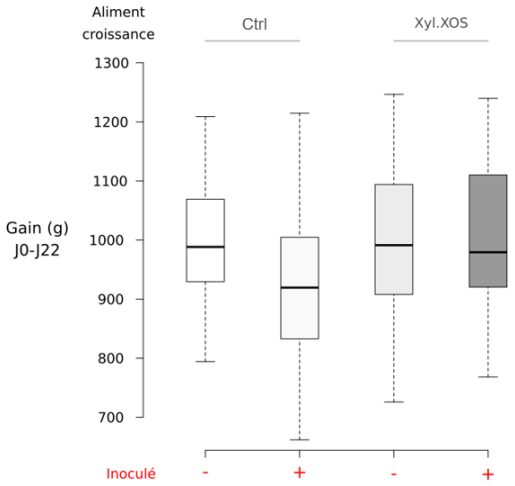
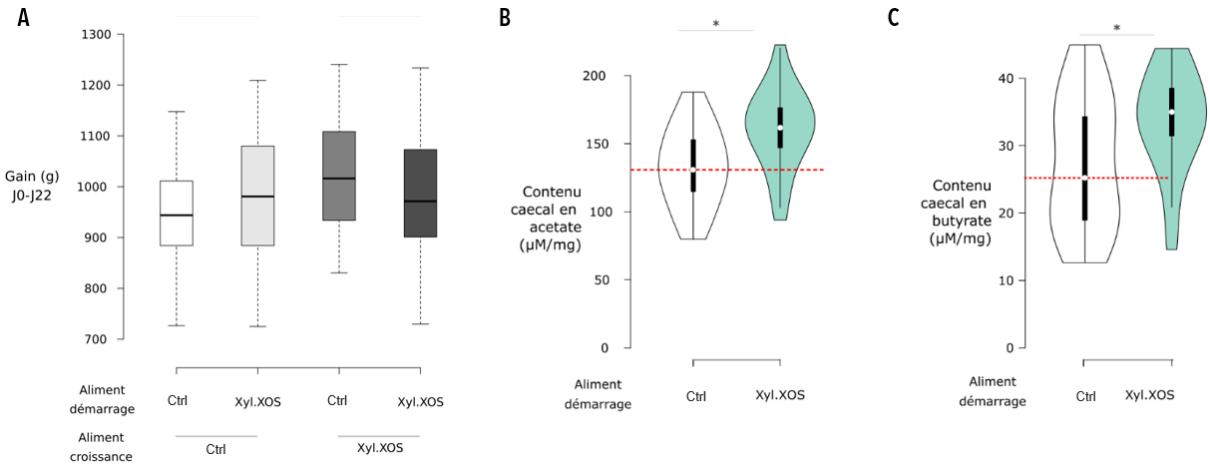


Figure 3. Effet à J22 d'une supplémentation précoce et tardive en Xyl.XOS A) Interaction d'une supplémentation précoce et tardive en Xyl.XOS sur les performances B-C) Effet d'une supplémentation précoce sur les concentrations en acétate et en butyrate.



EFFET DU CALCIUM PARTICULAIRE ET DE L'AGE SUR LA QUALITE DE LA COQUILLE DE L'ŒUF ET LA MINERALISATION OSSEUSE CHEZ LA POULE PONDEUSE : APPROCHE PAR META-ANALYSE

Hervo Fabien[1,2], Narcy Agnès[2], Létourneau-Montminy Marie-Pierre[1]

[1]UNIVERSITÉ LAVAL - Département des sciences animales, 2425 rue de l'Agriculture, G1V 0A6, QUÉBEC, Canada,

[2] UMR BOA – INRA - Université de Tours, BOA, 37380, NOUZILLY, France

fabien.hervo@inrae.fr

RÉSUMÉ

Chez la poule pondeuse, l'export massif de calcium (**Ca**) pour la formation de la coquille en période nocturne entraine une mobilisation importante du Ca osseux induisant une fragilisation du squelette. L'utilisation de Ca particulaire (*i.e.* > 0,8 mm) est une pratique courante en élevage permettant d'éviter en partie que la poule ne puise dans ses réserves osseuses. De nombreuses études traitent de l'effet du Ca particulaire sur la qualité de la coquille et la minéralisation osseuse, mais une grande variabilité de réponse est observée, indiquant la nécessité de quantifier les effets du Ca particulaire sur différents paramètres d'intérêt et d'identifier les facteurs de modulation. Une méta-analyse incluant cinquante-cinq études représentant 192 expérimentations a été réalisée. Quatre catégories de variables réponses ont été étudiées : la solubilité du Ca dans la sphère digestive, les performances de production, la qualité de la coquille et la minéralisation osseuse. Pour chaque variable, les facteurs taille de particules, âge et leur interaction ont été testés. L'analyse montre que la solubilité *in vitro* baisse linéairement avec la taille des particules ($P < 0,001$; $R^2 = 0,91$) tandis que la solubilité *in vivo* augmente linéairement ($P < 0,001$; $R^2 = 0,91$). En étant retenu plus longtemps dans le gésier, le Ca particulaire ($P < 0,001$; $R^2 = 0,60$) est mieux dissout assurant ainsi une diffusion prolongée de Ca soluble au cours de la nuit. L'incorporation de Ca particulaire ne montre pas d'effet sur les performances de production, mais augmente les paramètres de qualité de coquille ; des particules de 1,5 mm améliorent la gravité spécifique de 0,8%, l'épaisseur de coquille de 1,1% et la force de fracture de la coquille de 3% par rapport à des particules de 0,15 mm. Enfin, l'incorporation de Ca particulaire augmente la force de fracture du tibia et de façon plus marquée avec l'âge ($P < 0,001$; $R^2 = 0,89$). Cette étude a permis de quantifier l'effet du Ca particulaire sur les paramètres de qualité de coquille et de minéralisation osseuse en fonction de l'âge des oiseaux. Ces résultats sont particulièrement utiles dans une perspective de modélisation de l'utilisation de Ca chez la poule pondeuse.

ABSTRACT

Effect of limestone particle size on performance, eggshell quality, bone mineralization, and in vitro/in vivo solubility in laying hens: a meta-analysis approach

Numerous publications over the five last decades have investigated the effect of limestone particle size (**LmPS**) on production performance, bone mineralization, and limestone solubilization in laying hens. Coarse limestone particles have been shown to improve eggshell quality and bone mineralization. However, there is a large variability of responses in birds to this factor, indicating the need to better quantify the effect of modulating factors related to coarse particles that could explain this variability. The objective of this meta-analysis was to study the impact of LmPS on the digestive and metabolic fate of Ca to optimize calcium utilization by laying hens. Forty-nine papers published between 1971 and 2019, including 192 experiments were included in this study. Four categories of dependent variables were identified: Ca solubility, production performance, eggshell quality, and bone strength. Independent variables tested were LmPS and Age. Results showed that the *in vitro* solubilization of limestone linearly decreased ($P < 0.001$; $R^2 = 0.91$) while *in vivo* solubilization linearly increased with LmPS ($P < 0.001$; $R^2 = 0.91$). Coarse limestone particles were retained longer in the gizzard ($P < 0.001$; $R^2 = 0.60$), inducing higher Ca solubilization by gastric juices than fine limestone. LmPS showed no effect on production performance while all eggshell quality parameters increased with LmPS ($P < 0.001$; $R^2 > 0.91$). The most relevant effect of LmPS was on tibia breaking strength. This effect was age dependent (Age × LmPS, $P < 0.001$; $R^2 = 0.89$) with coarse limestone particles increasing tibia breaking strength with aging compared to fine limestone particles. The current study renders it possible to quantify the effects of age and LmPS on eggshell quality and bone mineralization. This work showed an interaction between eggshell quality and bone mineralization and showed that LmPS increases bone strength in older laying hens.

INTRODUCTION

Chez la poule pondeuse, la formation de la coquille de l'œuf se déroule de façon cyclique à l'échelle de la journée et requiert une grande quantité de calcium (**Ca** ; ~2g/jour). La majeure partie du Ca est apportée par l'alimentation (70%). Néanmoins, il existe une désynchronisation entre l'apport de Ca alimentaire le jour et la forte demande en Ca pour la coquille la nuit. Ainsi, la poule puise le Ca nécessaire dans une réserve transitoire : l'os médullaire. La résorption de l'os médullaire par les ostéoclastes s'accompagne d'une résorption de l'os cortical. Ce dernier n'étant pas reconstitué au cours du temps, la mobilisation du Ca osseux entraine une fragilisation du squelette avec l'âge. En plus des troubles osseux, le vieillissement chez la poule induit une baisse de la production, accompagnée d'une baisse de la qualité de coquille. Les effets positifs de l'incorporation de Ca particulaire (*i.e.* particules de calcaire de 0,8 mm de diamètre ou plus) sur les paramètres de production, de qualité de coquille et de minéralisation osseuse ont été montrés, mais ces effets restent variables et pas toujours compris. Afin de quantifier l'effet du Ca particulaire chez la poule pondeuse en fonction de l'âge, une méta-analyse a été réalisée.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Collecte de données et calculs

Les études utilisées pour cette méta-analyse proviennent de différentes bases de données : CAB Abstracts, Google Scholar, MedLine et Food Science and Technology Abstracts. Suite à cette recherche, 82 publications ont été sélectionnées. Seules les publications qui traitaient de la poule pondeuse et qui utilisaient le calcaire comme source de Ca ont été conservées. Du fait de faibles variabilités (intra et inter expérimentation) du Ca et phosphore total (**Pt**) alimentaires, seules les publications où les poules étaient au besoin (selon le NRC, 1994) en Ca et Pt ont été conservées. Cette sélection a conduit à la formation d'un jeu de données contenant 58 publications parues entre 1971 et 2019.

A partir du jeu de données principal, 3 sous bases ont été construites. La première traitait de l'effet de la taille des particules de Ca sur les paramètres de solubilisation *in vitro* et *in vivo*, ainsi que sur la rétention de Ca dans le gésier. Cette base de données comprenait 13 publications parues entre 1971 et 2011. Parmi ces publications, 8 traitaient de la solubilisation *in vitro*, 5 de la solubilisation *in vivo* dont 2 traitaient de la solubilisation *in vitro* et *in vivo* simultanément. Dans toutes les publications sélectionnées, la solubilisation *in vitro* du Ca était mesurée selon la méthode décrite par Zhang et Coon (1997). La solubilisation *in vivo* était mesurée selon la méthode de Rao et Roland (1989). La deuxième sous base traitait de l'effet de la taille des particules sur les performances de production et les paramètres de qualité de la coquille. Cette base de données incluait 42 publications parues entre 1971 et 2019. La troisième sous base traitait de l'effet de la taille des particules sur les paramètres de minéralisation osseuse. Elle comprenait 9 publications parues entre 1990 et 2011.

Basé sur les données de la littérature, les larges particules sont définies comme étant supérieurs ou égales à 0,8mm (Rao et Roland, 1990). Environ un quart des études utilisées combinait l'effet de la taille des particules de Ca et le taux d'incorporation des larges particules dans la ration. Afin de standardiser l'effet taille de particules, nous avons calculé et utilisé comme variable explicative la taille moyenne des particules (**TMP**) de Ca de la façon suivante :

TMP = (taille des larges particules × taux d'incorporation) + (taille des fines particules × taux d'incorporation)

1.2. Analyses statistiques

Les variables dépendantes mesurées dans les publications ont été classées en 4 catégories (**Tableau *1***) : 1) le devenir des particules de Ca dans le tractus digestif, avec les données de solubilité *in vitro* et *in vivo* et de rétention du Ca dans le gésier. 2) Les performances de production, avec le taux de ponte (%) et le poids des œufs (g). 3) Les paramètres de qualité de coquille, avec la gravité spécifique, l'épaisseur (mm) et la force de fracture de la coquille (kg). 4) Les paramètres de minéralisation osseuse avec la force de fracture du tibia (kg). Chaque variable dépendante a été analysée avec le modèle linéaire généralisé mixte suivant :

$$Y_{ij} = B_0 + S_{i+} B_i X_{ij} + b_i X_{ij} + e_{ij} \ ,$$

avec Y_{ij} la variable dépendante du $j^{ème}$ traitement de la $i^{ème}$ étude, B_0 l'intercept de l'étude, X_{ij} la variable indépendante du $j^{ème}$ traitement de la $i^{ème}$ étude, S_i l'effet aléatoire de l'étude sur l'intercept, b_i l'effet aléatoire de l'étude sur le coefficient de régression et e_{ij} l'erreur résiduelle non expliquée par le modèle. Pour chacune des variables dépendantes, l'effet taille des particules de Ca, âge et leur interaction ont été testés. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 3.02 (R core team, 2013). Les modèles linéaires mixtes ont été étudiés avec la fonction *lme* du package *nlme* version 3.1 – 117 (Pinheiro et al., 2015).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Devenir des particules de Ca dans le tractus digestif

La solubilité in vitro baisse quand TMP augmente ($P < 0,001$), alors que la solubilité in vivo augmente ($P < 0,001$). Les résultats indiquent que la quantité de Ca retenue après 24 heures augmente avec la taille des particules ($P < 0,001$). Le terme de « solubilité *in vivo* », souvent repris dans la littérature, confond les notions de disparition physique de la particule du gésier (en lien avec la vitesse de transit), et la notion chimique de dissolution de la particule (en lien avec le milieu acide). La différence de solubilité *in vivo* entre les larges et les fines particules peut ainsi être expliquée par deux mécanismes. Premièrement, les larges particules stimulent les sécrétions acides du proventricule par distension des parois du gésier (Svihus, 2011). Guinotte et al. (1993) ont montré que l'incorporation de larges particules de Ca augmente la sécrétion d'acide chlorhydrique de 11%, ce qui favoriserait la dissolution du Ca. Deuxièmement, les larges particules sont spécifiquement retenues dans le gésier (Scott et al., 1971), elles présentent un temps moyen de rétention plus long par rapport aux fines particules. Basé sur les données de rétention du Ca dans le gésier en fonction de la taille des particules décrites par Rao et al. (1992), nous avons calculé le temps moyen de rétention des particules de Ca dans le gésier : 345 min et 65 min pour des larges et fines particules respectivement. Ainsi, due à leur accumulation transitoire dans le gésier, les larges particules de Ca restent plus longtemps au contact d'un milieu acide, favorisant leur solubilisation (Bo-Linn et al., 1994). Les larges particules fournissent du Ca soluble plus longtemps à l'intestin par rapport aux fines particules.

2.2. Performances de production

La TMP ne montre pas d'effet sur le taux de ponte ou le poids des œufs, en accord avec la littérature. Ces paramètres sont significativement affectés par l'âge (Âge et Âge² ; $P < 0,001$). Ainsi, le taux de ponte augmente linéairement jusqu'à 30 – 35 semaines puis baisse progressivement entre 35 et 80 semaines (−10 %). La baisse du taux de ponte peut être expliquée par une diminution de la durée de la séquence de ponte, et une augmentation de l'intervalle entre deux séquences de ponte (Johnston et Gous, 2003). Le poids des œufs augmente de 4,77g entre 35 et 80 semaines pour atteindre un plateau aux alentours de 80 semaines. La hausse du poids de l'œuf peut être liée à l'augmentation relative du poids du jaune avec l'âge (Travel et al., 2010).

2.3. Qualité de la coquille

La gravité spécifique, la force de fracture et l'épaisseur de la coquille augmentent avec TMP ($P < 0,001$). Par exemple, une augmentation de la taille des particules de Ca de 0,15 à 1,5mm augmente la gravité spécifique, la force de fracture et l'épaisseur de la coquille de 0,8%, 1,1% et 3,0%, respectivement (**Figure *1***). L'augmentation des paramètres de qualité de la coquille avec la taille des particules peut être expliquée par la plus longue diffusion de Ca soluble dans l'intestin. Les larges particules réduisent l'écart entre l'apport de Ca le jour et le besoin en Ca pour la coquille la nuit. L'âge ne montre pas d'effet sur la force de fracture ni même sur l'épaisseur de la coquille. La gravité spécifique de la coquille baisse significativement de 0,6% entre 35 et 70 semaines ($P < 0,001$). La littérature indique pourtant une baisse de la qualité de la coquille avec l'âge (Zita et al., 2012). Cette baisse de la qualité de coquille semble être liée à la baisse de la capacité de l'intestin à absorber le Ca (Franco-Jimenez et Beck, 2005). L'absence d'effet de l'âge sur les paramètres de qualité de coquille dans notre étude s'explique par le méta-design compte tenu du peu de variabilité intra-expérimentation de l'âge.

2.4. Minéralisation osseuse

La force de fracture du tibia baisse significativement avec l'âge ($P < 0,05$;**Figure *2***), en accord avec la littérature (Yamada et al., 2021). Un taux de ponte élevé associé à un décalage entre l'apport et le besoin en Ca pour la coquille accroit la mobilisation osseuse (Kim et al., 2012). De plus, la baisse de la capacité de l'intestin à absorber le Ca avec l'âge implique une mobilisation osseuse du Ca plus importante pour assurer la production de la coquille. La baisse de la force de fracture avec l'âge est moins prononcée chez des poules recevant des larges particules de Ca (TMP × Âge ; $P < 0,001$), en accord avec la littérature (Fleming, 2008). Ainsi, la force de fracture du tibia baisse de 20% et 15% entre 35 et 80 semaines pour des particules de 0,15mm et 1,5mm, respectivement. L'accumulation temporaire des larges particules de Ca dans le gésier permet une diffusion progressive du Ca soluble dans l'intestin. Ainsi, contrairement aux fines particules qui constituent une source rapidement utilisable de Ca, les larges particules permettent de réduire l'écart temporel entre l'apport de Ca alimentaire le jour et le besoin pour la production de la couille la nuit. De cette manière, l'incorporation de larges particules permet de réduire la mobilisation des réserves osseuses.

CONCLUSION

Ce travail permet de quantifier les effets de la taille des particules de Ca et de l'âge sur différent paramètres physiologiques et de production. Cela permettra de développer les équations d'un modèle mathématique mécaniste simulant le devenir du Ca et P dans le tractus digestif de la poule pondeuse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bo-Linn, G. W., G. R., Davis, D. J., Buddrus, S. G., Morawski, C., Santa Ana, and S. F., Fordtranm. 1984. J. Clin. Investig. 73 (3): 640 – 647.
Fleming, R. H. 2008. Proceedings of the Nutrition Society 67: 177 – 183.
Franco-Jimenez, D. J., and M. M., Beck. 2005. Int. J. Poult. Sci. 4 (8): 518 – 522.
Guinotte, F., J., Gautron, A., Soumarmon, J. C., Robert, G., Peranzi, and Y., Nys. 1993. Comp. Biochem. Phy. A 106 (2): 319 – 327.
Johnston, S. A., and R. M., Gous. 2003. Br. Poult. Sci. 44 (5): 752 – 760.
Kim, W. K., S. A., Bloomfield, T., Sugiyama, T., and S. C., Ricke. 2012. World Poult. Sci. Journal 68 (1) : 71 - 82.
National Research Council. 1994. Nutrients requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
Pinheiro, J., D., Bates, S., DebRoy, D., Sarkar, and R Core Team. 2015. R package, version 3.1–117.
R Core Team. 2013. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
Rao, K. S., and D. A., Roland, Sr. 1989. Poult. Sci. 68 (11): 1499 – 1505.
Rao, K. S., and D. A., Roland, Sr. 1990. Poult. Sci. 69 (12): 2170 – 2176.
Rao, K. S., D. A., Roland, Sr., J. L., Adams, and W. M., Durboraw. 1992. J. Appl. Poult. Res.1 (1): 6 – 10.
Scott, M. L., S. J., Hull, and P. A., Mullenhoff. 1971. Poult. Sci. 50 (4): 1055 – 1063.
Svihus, B. 2011. World Poult. Sci. J. 67 (2): 207 – 224.
Travel, A., Y., Nys, and E., Lopes. 2010. INRA Prod. Anim. 23 (2): 155 – 166.
Yamada, M., C., Chen, T., Sugiyama, and W. K., Kim. 2021. Animals 11 (2): 570.
Zhang, B., and C. N., Coon. 1997. J. Appl. Poult. Res. 6 (12): 94 – 99.
Zita, L., Z., Ledvinka, E., Tumova, and L., Klesalova. 2012. Rev. Bras. de Zootec.41 (9): 2079 – 2084.

Tableau 1 : Statistiques descriptives du jeu de données.

	Nombre d'observations	Nombre de publications	Moyenne	SD	Min.	Max.
Variables indépendantes						
Taille des particules de Ca	367	49	1,312	1,248	0,039	6,500
Âge	367	49	54,35	18,06	26,00	90,00
Variables dépendantes						
Solubilité *in vitro* du Ca (%)[1]	61	8	50,76	15,66	24,20	100,00
Solubilité *in vivo* du Ca (%)[2]	43	5	79,23	9,47	54,00	96,00
Rétention du Ca dans le gésier (g)	32	2	4,50	3,48	0,10	15,40
Taux de ponte (%)	251	42	81,7	10,4	52,0	98,5
Poids des œufs (g)	251	37	62,44	3,56	54,70	70,20
Gravité spécifique	85	15	1,081	0,005	1,070	1,091
Épaisseur de la coquille (mm)	137	19	0,370	0,035	0,260	0,446
Force de fracture de la coquille (kg)	127	16	3,71	0,42	2,58	5,13
Force de fracture du tibia (kg)	55	9	20,80	3,29	15,40	27,30

[1]La solubilité *in vitro* des particules de Ca a été déterminée selon la méthode de Zhang and Coon (1997).

[2]La solubilité *in vivo* des particules de Ca a été déterminée selon la méthode de Rao and Roland (1989).

SESSION NUTRITION

Synthèse

LA SANTE OSSEUSE EN FIN DE CARRIERE DES POULES : UN DEFI POUR LES NUTRITIONNISTES

Duclos Michel J.[1], Gloux Audrey [1], Narcy Agnès[1], Quentin Maxime[2]

[1]UMR BOA INRAE Université de Tours Centre - Centre INRAE– 37380 NOUZILLY,
[2]ITAVI - Chambre d'agriculture Rennes CS 14226, 35042 Rennes, France
michel.duclos@inrae.fr

RÉSUMÉ
La santé osseuse est une préoccupation majeure en élevage de pondeuses, avec l'apparition de signes pathologiques dès le pic de ponte : ostéoporose, déviations ou fractures du bréchet, voire fracture d'os longs, observés dans tous les systèmes de production. Dans leurs formes les moins graves ces soucis, qui s'aggravent en général en fin de cycle de production, compromettent le bien-être animal, mais peuvent aussi conduire à des réformes et des pertes, allant jusqu'à l'arrêt anticipé d'un lot. Tout indique qu'ils sont liés au fort besoin en Ca pour assurer la synthèse de la coquille. Pour les maitriser, il est donc indispensable de mieux comprendre les mécanismes physiologiques de l'homéostasie calcique chez la poule et plus particulièrement ceux impliquant le tissu osseux. Au-delà des études classiques qui sont rappelées, de récents travaux apportent des données nouvelles sur les effecteurs du transport de calcium (Ca) au travers de l'épithélium intestinal, sur les mécanismes du turn-over osseux et leurs régulations. Ces travaux sont cohérents avec les précédents pour souligner le rôle central de la vitamine D et de ses métabolites, mais ils mettent aussi en avant un facteur encore peu étudié chez la poule, le Fibroblast Growth Factor-23 (FGF23). Celui-ci est exprimé par le tissu osseux et exercerait son action en favorisant l'excrétion urinaire du phosphore (P) résultant de l'ostéolyse. Par ailleurs, en inhibant la synthèse de la forme active de vitamine D3 ou en activant sa dégradation, il exercerait un rétrocontrôle négatif sur la rétention de Ca et de P. FGF23 est surexprimé chez la poule en fin de ponte par rapport à celle au pic de ponte. Ceci ouvre des perspectives de recherche pour savoir s'il est la cause ou seulement un marqueur des dérégulations du métabolisme phosphocalcique.

ABSTRACT
Late-life bone health in hens: a challenge for nutritionists
Bone health is a major concern in layer production, with pathological signs appearing as soon as laying peaks: osteoporosis, deviations or fractures of the wishbone, or even long bone fractures, observed in all production systems. In their less serious forms, these problems, which generally worsen at the end of the production cycle, compromise animal welfare, but they can also lead to culling and losses, or to the early termination of a flock. Everything indicates that they are linked to the high Ca requirement for shell synthesis. In order to control them, it is therefore essential to better understand the physiological mechanisms of calcium homeostasis in hens, particularly those involving bone tissue. In addition to the classic work that is mentioned, the team's recent work provides new data on the effectors of calcium transport through the intestinal epithelium, on the mechanisms of bone turnover and their regulation. This work is consistent with previous ones in highlighting the central role of vitamin D and its metabolites, but it also highlights a factor that has not yet been studied in details in the laying hen, Fibroblast Growth Factor-23 (FGF23). This is expressed by bone tissue and is thought to exert its action by promoting the urinary excretion of P resulting from osteolysis. In addition, by inhibiting the synthesis of the active form of vitamin D3 or by activating its degradation, it would exert a negative feedback on Ca and P retention. FGF23 is overexpressed in the late laying hen compared to the peak laying hen. This opens up the possibility of research into whether FGF23 is the cause or only a marker of deregulation of phosphocalcic metabolism.

INTRODUCTION

L'intensité de ponte et la qualité des œufs, notamment celle de sa coquille, sont les deux premiers critères de succès d'un lot de pondeuses et conditionnent son maintien au-delà du pic de ponte. Pour autant, la santé osseuse est aussi une préoccupation majeure en élevage, avec l'apparition de signes pathologiques dès le pic de ponte : ostéoporose, déviations ou fractures du bréchet, voire fracture d'os longs. Dans leurs formes les moins graves, ces soucis compromettent le bien-être animal, mais ils peuvent aussi conduire à des réformes et des pertes, allant jusqu'à l'arrêt anticipé d'un lot. Pour maitriser ces problèmes, il est indispensable de mieux comprendre les mécanismes physiologiques contrôlant le métabolisme osseux chez la poule.

1. IMPORTANCE DU COMPARTIMENT OSSEUX DANS LE METABOLISME PHOSPHOCALCIQUE DE LA POULE PONDEUSE

La synthèse d'une coquille d'œuf requiert environ 2 g de Ca qui proviennent en majorité de l'alimentation ingérée en phase diurne. Cependant, cette synthèse ayant lieu la nuit une partie va provenir de l'os qui en est l'organe de stockage. Pour répondre à ce défi métabolique la poule développe avec la maturité sexuelle un certain nombre d'adaptations (Nys et Le Roy, 2018). Celles-ci lui permettent d'augmenter l'assimilation et la rétention de Ca ainsi que son stockage intermédiaire dans l'os, afin de le libérer dans la circulation et à destination de l'utérus pendant la période sombre. La forte assimilation de Ca est rendue possible par le développement progressif d'un appétit spécifique pour le Ca qui apparait environ 4 semaines avant la production du premier œuf (Voir Nys et Le Roy, 2018 pour une revue). Il est classiquement admis que la demande de l'utérus pour assurer la synthèse de la coquille est prioritaire (voir Nys et Le Roy 2018 pour une revue).

1.1. Adaptations physiologiques lors de la maturité sexuelle

Les poules actuelles sont matures à partir de 18-19 semaines, suite à 4 semaines d'imprégnation en œstrogènes, qui ont aussi des répercussions sur le foie, le rein et l'os (Nys et Le Roy 2018). Leur action s'exerce sur la synthèse hépatique des protéines liant la Vitamine D (VDBP), sur l'activité de la 1 α-hydroxylase, enzyme rénale conduisant à l'augmentation des concentrations circulantes en $1,25(OH)_2D_3$ (forme active de la vitamine D3), et l'apparition d'une structure osseuse particulière, l'os médullaire. Celui-ci présente un cycle quotidien de remodelage osseux pour assurer les besoins en Ca au cours de la journée. L'augmentation de la forme active de vitamine D3 induit une forte augmentation de l'absorption intestinale de Ca à la maturité sexuelle. L'absorption au travers de l'épithélium intestinal peut se faire par deux mécanismes complémentaires (voir Nys et Le Roy, 2018 pour revue et Figure 1). Le premier est un mécanisme de transport facilité et saturable au travers de la cellule (voie transcellulaire). Il implique un canal calcique de type TRPV pour l'entrée du Ca au pôle apical de l'entérocyte, la calbindine, protéine de liaison du Ca intracellulaire, et des transporteurs assurant la sortie du Ca au pôle baso-latéral vers la circulation sanguine. Ces derniers sont des transporteurs dépendant de l'ATP et un échangeur à sodium. Cette voie transcellulaire est particulièrement adaptée aux passages de Ca lorsque les concentrations dans la lumière sont faibles. Le second mécanisme implique un transport passif et non saturable, au travers de pores présents entre les cellules épithéliales, il est qualifié de paracellulaire. Les acteurs de cette voie sont les protéines constitutives des jonctions serrées entre entérocytes, claudines (CLDN), occludine (OCLN) et protéines des jonctions serrées (TJP). Alors que la maturité sexuelle avait été associée depuis longtemps à l'induction des acteurs de la voie de transfert transcellulaire et notamment de la calbindine (Nys et Le Roy, 2018), des travaux récents montrent aussi l'induction des acteurs de la voie paracellulaire d'absorption de Ca (Gloux et al, 2019). La vitamine D3, en présence de concentrations plasmatiques croissantes en Ca et P, permet aussi la minéralisation de l'os médullaire.

1.2. Le cycle quotidien d'assimilation du Ca chez une poule au pic de ponte

La biominéralisation de la coquille est un processus très rapide qui se déroule quotidiennement dans la glande utérine et implique une exportation massive de Ca de la circulation sanguine vers le fluide utérin, représentant 10 % du stock corporel. Cet export induit ponctuellement une hypocalcémie qui met en route une cascade de régulations hormonales (résumée en Figure 2) pour rétablir une calcémie normale, en mobilisant tous les organes nécessaires. Le défi imposé à la poule est d'autant plus important que le Ca provient de l'aliment ingéré pendant la journée, mais doit être fourni à l'utérus pour la synthèse de coquille pendant la nuit.

La première adaptation est comportementale, la poule présente un appétit spécifique pour le Ca qui se manifeste 4 h avant l'extinction de la lumière. Elle recherche les particules de CaCO3 les plus grosses. Celles-ci seront retenues dans son estomac induisant une libération d'acide chlorhydrique propice à la solubilisation lente du carbonate de Ca.

La majorité du Ca soluble est ensuite absorbé dans les parties proximales de l'intestin grêle, duodénum et jéjunum. Il est bien établi que cette absorption

augmente lors de la phase de synthèse de la coquille quand le besoin est maximal. Son passage emprunte les voies transcellulaire et paracellulaire décrites dans le paragraphe précédent. Des travaux récents (Gloux et al, 2019) permettent d'établir une liste plus complète d'acteurs de la voie transcellulaire, exprimés dans les différents segments de l'intestin grêle de la poule, ceux-ci sont présentés dans la Figure 1 adaptée de Gloux et al, (2019) et leurs variations au cours du cycle ovulatoire sont illustrées sur la Figure 2, résumant les résultats de Gloux et al. (2020 a). Le canal TRPV6, décrit comme l'acteur majeur de l'entrée du Ca dans l'entérocyte de mammifère, n'est pas détecté chez la poule. Plusieurs gènes apparentés, TRPV2, TRPC1 et TRPM7 sont détectés (Gloux et al, 2019). TRPV2 est spécifiquement surexprimé dans le jéjunum au stade tardif de formation de la coquille et juste après l'oviposition pendant la phase d'ostéosynthèse (Gloux et al, 2020 a). L'expression de la calbindine, détectée dans tous les segments, ne varie pas avec le cycle (Gloux et al, 2020 a). L'expression de plusieurs ATPase impliquées dans la sortie du Ca au pôle basal est détectée, ATP2B1, ATP2B2 et ATP2B4. L'une d'entre elles, ATP2B2, est fortement induite dans le duodénum au stade précoce de minéralisation de la coquille, alors que les deux autres, ATP2B1 et ATP2B4, sont induites au stade tardif de minéralisation, dans les deux segments proximaux, duodénum et jéjunum (Gloux et al, 2020 a). Par ailleurs et pour la première fois ces études détectent l'expression de 9 gènes candidats impliqués dans le transport paracellulaire du Ca au travers des jonctions serrées. Parmi eux 4 gènes codent pour des claudines, dont 2 avec une sélectivité pour le Ca (CLDN2 et CLDN12). Dans le duodénum, la CLDN2 est régulée au cours du cycle ovulatoire, avec une surexpression relative juste après l'oviposition et pendant la phase tardive de calcification (Gloux et al, 2020 a). L'expression des gènes codants pour les protéines constitutives de la jonction serrée est détectée aussi dans l'intestin grêle (Gloux et al, 2020 a). Il s'agit des protéines des jonctions serrées, produits des gènes TJP (1 à 3), et de l'occludine (OCLN). Seul le gène TJP3 est régulé au cours du cycle, avec une surexpression relative pendant la calcification. Plusieurs acteurs des deux voies sont donc induits pendant la phase de synthèse de la coquille, ce qui indique qu'elles peuvent coopérer au transfert de Ca au travers de l'épithélium digestif (Gloux et al, 2020 a). Lorsque la lumière intestinale se retrouve dépourvue de Ca soluble, quelques heures après l'arrêt de l'ingestion de Ca, une nouvelle hypocalcémie va induire la mobilisation du Ca osseux.

1.3. L'os médullaire, siège d'un cycle quotidien de remodelage osseux

C'est la libération de parathormone (PTH) en réponse à l'hypocalcémie qui induit l'activation des ostéoclastes, cellules responsables de l'ostéolyse. Ce processus va libérer du Ca et du P. Le premier est exporté vers l'utérus, alors que le second inutile pour la synthèse de la coquille est éliminé par le rein. Des travaux récents (Gloux et al, 2020 a) ont montré que cette phase était associée à l'expression dans l'os médullaire de gènes impliqués dans le turn-over osseux et du Facteur de Croissance des Fibroblastes - 23 (FGF23). Celui-ci a pour fonction première de signaler au rein la nécessité d'éliminer l'excès de P. Il lui signale aussi de réduire la production rénale de 1,25OH2D3, en inhibant l'expression et l'activité de l'enzyme 1 α-hydroxylase, et en activant l'enzyme 24-hydroxylase, impliquée dans la dégradation de 1,25OH2D3. Il en résultera donc une diminution de la captation intestinale de Ca et de P, puis de leur libération osseuse. Après la phase de calcification, puis d'oviposition, le besoin en Ca diminue, l'ostéolyse s'arrête et c'est une phase d'ostéosynthèse qui démarre (Gloux et al, 2020 a), attestée par l'expression de gènes impliqués dans ce processus.

Chez des jeunes poules au pic de ponte, c'est le stade dans le cycle ovulatoire qui détermine la majorité des paramètres étudiés (Gloux et al, 2020, a). Cependant les concentrations circulantes en 1,25OH2D3 sont plus élevées chez les poules nourries avec des particules fines, suggérant un état d'hypocalcémie plus marqué (Gloux et al, 2020 a) et la forme de l'apport calcique influe sur l'expression de certains transporteurs intestinaux. Ainsi, l'apport de particules grossières conduit à une expression accrue à certains stades, pour TRPV2 à 0-1 h PO, ATP2B2 et CLDN12 à 9-10 h PO, ATP2B2 et OCLN dans le duodénum. On observe aussi un effet bénéfique global des particules grossières avec une augmentation de l'expression des transporteurs TRPM7, TRPC1, TJP2 et du récepteur à la vitamine D (VDR). Plusieurs marqueurs d'une activité forte de remaniement osseux sont surexprimés dans l'os médullaire des poules nourries avec des particules fines, qu'ils soient plutôt associés à l'ostéosynthèse (COL1A), à l'ostéolyse (ACP5, CTSK, OPG) ou à leur régulation (ITGB1 et MMP2). Ces résultats suggèrent donc que l'effet bénéfique de l'apport de carbonate de Ca en particules grossières s'expliquerait par une moindre mobilisation osseuse, associée à un meilleur potentiel de captation intestinale du Ca.

2. LES PERTURBATIONS DU METABOLISME PHOSPHOCALCIQUE EN FIN DE PONTE ET SES CONSEQUENCES SUR LE STATUT OSSEUX

2.1. Des altérations observables du tissu osseux

Les premières observations sont anciennes. On parlait déjà dans les années 1955 d'une fatigue de la poule en cage qui s'accompagnait de difficultés de la posture debout, d'une mauvaise qualité de coquille pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la ponte, voire la paralysie en

cas de fractures vertébrales et la mort. Ces poules présentaient aussi des os fragiles, signe d'ostéoporose. Ce syndrome arrive dès le pic de ponte suite à des défauts de conduite d'élevage, notamment d'apport en minéraux. L'ostéoporose chez la poule résulte de la diminution de quantité d'os structural minéralisé, qui le rend fragile et sujet aux fractures. Cette altération est présente dans tous les systèmes d'élevage (Whitehead & Flemming, 2000). Récemment, ce sujet a fait l'objet d'un regain d'intérêt du fait de l'incidence élevée de défauts du bréchet, allant de déviations à des fractures avérées, sources de mal-être chez les poules. Ces défauts présentent une fréquence et une sévérité accrues dans les systèmes alternatifs (de type volière notamment) dans lesquels les poules évoluent sur plusieurs niveaux (voir revue de Toscano et al, 2020). Ils sont associés à des défauts de type ostéoporotique observables par radiographie. Les travaux récents de Gloux et al, 2020 b apportent une vue globale des perturbations observables chez des poules en fin de cycle de ponte par rapport à des poules au pic de ponte. Ils sont présentés dans le Tableau 1, décrits et discutés dans les paragraphes suivants (2.2 à 2.4).

2.2. Altération du métabolisme de la vitamine D3

Plusieurs études notent un déficit de 1,25OH2D3 chez des poules âgées, associé à une réduction de l'activité de l'enzyme rénale 1 α-hydroxylase (Abe et al, 1982 ; Gloux et al, 2020 b). Ce déficit en 1,25OH2D3 pourrait expliquer la diminution de l'absorption intestinale de Ca avec l'âge (Al-Batshan et al, 1994 ; Franco-Jimenez & Beck, 2005).

2.3. Altération du fonctionnement des effecteurs tissulaires et moléculaires

En cohérence avec la diminution de l'absorption intestinale préalablement décrite, une étude récente (Gloux et al, 2020 b) indique que plusieurs acteurs du transport transcellulaire (TRPM7, TRPV2) et du transport paracellulaire (CLDN2 et CLDN12 au stade 9-10 h PO) de Ca voient leur expression diminuer entre 23 et 90 semaines d'âge, en même temps que celle du VDR. Au niveau rénal, la diminution de l'expression de TRPV5 pourrait réduire la réabsorption du Ca chez les poules de 90 semaines. Tout ceci pourrait contribuer à une hypocalcémie et au déclenchement de l'ostéolyse. L'expression de RANK, marqueur de l'ostéoclastogenèse, a lieu plus tôt dans le cycle chez les vieilles que chez les jeunes poules. Il s'avère qu'au moins deux marqueurs d'ostéolyse, CA2 et OPG sont exprimés à un niveau supérieur chez les vieilles poules. Il en est de même pour FGF23, qui pourrait exercer son effet phosphaturiant en réduisant l'expression des transporteurs responsables de la réabsorption tubulaire de P, SLC20A1 et SLC34A1 chez la vieille poule, permettant ainsi que la phosphatémie reste similaire entre les deux groupes. A l'inverse, COL1A, marqueur de l'ostéosynthèse est exprimé à un moindre niveau.

2.4. Un rôle pivot pour FGF23 ?

Nous avons vu chez la jeune poule, que l'expression de FGF23 était spécifiquement induite dans l'os médullaire au cours du cycle, lorsque l'ostéolyse avérée par la libération du P, s'active (Gloux et al, 2020 a). Quoi qu'il reste à en mesurer les conséquences sur les concentrations circulantes en FGF23, les effecteurs de la réponse rénale sont exprimés dans cet organe (KL, FGFR3, CYP27C1 et SLC34A1), ce qui devrait conférer à FGF23 les effets attendus sur l'élimination urinaire du P et sur l'inhibition de la production de 1,25OH2D3. Les travaux de Ren et al (2017) le confirment, puisque l'immunisation contre FGF23 réduit l'excrétion de P chez la poule. Chez la vieille poule, la régulation au cours du cycle est conservée, cependant les niveaux d'expression sont aussi plus élevés que chez la jeune poule. Nous formulons l'hypothèse que cet excès de FGF23 pourrait expliquer pour partie les concentrations plus faibles en 1,25OH2D3 chez la poule âgée et contribuer ainsi à une moindre rétention du Ca dans l'organisme et en particulier une moindre absorption de Ca et reconstitution du stock osseux.

2.5. Quel lien entre qualité de la coquille et statut osseux ?

Après le pic de ponte, les poules présentent à la fois des défauts de solidité de coquille et des défauts osseux. Ces deux défauts qui compromettent la carrière d'un lot sont-ils indissociables, à l'échelle collective et à l'échelle de l'individu ? Bishop et al, (2000) ont observé que des poules sélectionnées génétiquement pour être plus résistantes à l'ostéoporose déposent moins de calcium pour la synthèse de la coquille, alors qu'elles ne diffèrent pas en termes de reproduction. Eusemann et al., (2018) ont constaté une incidence réduite des fractures dans une lignée ponte brune peu productive par rapport à une lignée brune fortement productive. De récents travaux indiquent que des poules sélectionnées individuellement pour une bonne qualité de coquille présenteraient des concentrations circulantes plus élevées en CTX, un marqueur d'ostéolyse (Pampouille et al, 2022). Ces différentes études suggèrent donc une corrélation négative entre ces deux paramètres et justifient la recherche d'un compromis optimal. Plusieurs études citées par Toscano et al. (2020) apportent des résultats similaires. Ce travail de synthèse a été réalisé dans le cadre d'un large projet portant sur les défauts du bréchet chez la poule pondeuse, un problème de bien-être considéré actuellement comme majeur. Il apparait que ce syndrome, même s'il est probablement lié au niveau de production d'œufs, est d'origine multifactorielle avec des facteurs prédisposants liés à l'âge au premier œuf, à l'ossification tardive du

bréchet, à des maladies osseuses et au manque d'activité physique.

3. QUELLES PISTES POUR L'AVENIR ?

3.1. Une meilleure maitrise de l'apport de Ca et P à l'échelle horaire

Il est connu depuis longtemps qu'un apport séparé en Ca est bénéfique pour la qualité de la coquille et réduit le nombre d'œufs cassés en élevage (Sauveur, 1992). Cette stratégie semble aussi diminuer le recours à l'ostéolyse, comme en atteste une phosphatémie plus basse. Si un apport trop faible peut pénaliser le taux de ponte, la synthèse de la coquille requière des quantités minimales de P. Il existe une corrélation négative entre phosphatémie et qualité de la coquille d'œuf, qui interroge sur la possibilité d'un effet négatif sur la qualité de coquille d'un apport nutritionnel excessif en P. Une stratégie intéressante consisterait à distribuer un apport différent entre le matin et l'après-midi, offrant des teneurs basses en Ca et hautes en P le matin (1,5 % Ca et 0,63 % Pd) et l'inverse l'après-midi (5,3 % Ca et 0,05 % Pd). D'après Sauveur (1992), un tel régime comparé à un apport constant et moyen sur la journée (3,8 % Ca et 0,30 % Pd) améliorerait le poids de coquille et réduirait drastiquement le nombre d'œufs fêlés ou cassés. Il s'accompagnerait aussi de valeurs plus faibles de phosphatémie pendant la phase de calcification, ce qui signe très probablement une réduction du recours à l'ostéolyse.
Les apports minéraux ne sont pas les seuls à devoir être considérés. En effet, idéalement la poule aurait besoin d'un apport supérieur en protéines et énergie le matin, au moment où le besoin en Ca est plus faible. Dans une revue de synthèse Molnar et al. (2018) comparent différentes stratégies nutritionnelles basées sur l'alimentation au choix ou l'alimentation séquentielle. Ces stratégies permettent d'adapter les apports aux besoins en fonction du stade du cycle, mais leurs résultats sont contrastés d'une étude à l'autre. Le seul régime qui recueille l'unanimité est celui basé sur l'alimentation en mélange libre avec des particules de carbonate de calcium de différentes tailles, permettant à la poule de trier selon son besoin.

3.2. Une meilleure maitrise de la nutrition minérale sur de longues périodes

Le besoin en Ca et P varie avec le stade physiologique et l'âge de la poule. Chez la poule en ponte, celui en Ca augmente alors que celui en P diminue.

Le réservoir osseux étant sollicité quotidiennement et sur une période longue, les déficits éventuels vont forcément se cumuler, et ce d'autant plus que le décalage de la ponte dans la journée va repousser la phase de synthèse de coquille pendant la nuit. Il importe en premier lieu que la poule commence sa carrière de pondeuse avec un potentiel osseux optimal. Il serait donc souhaitable d'augmenter l'apport calcique assez tôt, et pourquoi pas sous forme d'un aliment séparé riche en particules grossières pour permettre de répondre plus efficacement à l'appétit calcique précoce des futures poules pondeuses.

La rétention du Ca étant sous la dépendance de la vitamine D un apport adéquat doit les favoriser. Les recommandations d'apport de vitamine D3 augmentent avec l'âge, mais encore faut-il que celle-ci soit métabolisée correctement pour être active. Ceci implique 2 phases successives d'hydroxylation, la première hépatique conduit à la 25OHD3, d'ailleurs disponible sous forme d'additif alimentaire. Les concentrations circulantes de ce métabolite sont relativement stables dans la journée et l'on considère qu'elles reflètent le statut vitaminique de la poule. Une seconde hydroxylation, rénale, conduit à la forme active 1,25OH2D3 qui circule à des concentrations beaucoup plus faibles (environ 1/1000 de 25OHD3) et varient fortement en fonction du stade du cycle ovarien. Plusieurs études montrent un effet bénéfique de la 25OHD3 sur le statut en vitamine D3 et sur les paramètres de qualité d'œuf et d'os (Swiatkiewicz et al, 2017). Certaines études ont envisagé d'incorporer le métabolite 1,25OHD3 dans l'aliment. Ce produit ne semble pas apporter de bénéfice particulier sur la qualité des œufs lorsqu'il est ajouté à un régime apportant déjà de la vitamine D3 (Frost et al, 1990). Il pourrait cependant présenter un effet bénéfique sur la solidité osseuse.

3.3. Perspectives de recherche

La littérature et nos travaux récents indiquent différentes pistes de recherche, notamment pour passer de marqueurs invasifs à des marqueurs non invasifs permettant un suivi des poules à plusieurs stades successifs.

Nos observations indiquent clairement que le turn-over osseux est important pendant la phase de synthèse de la coquille, y compris chez des poules au pic de ponte nourries avec un apport mélangé de carbonate de Ca en particules fines et grossières (Gloux et al, 2020a), même s'il est plus favorable que le régime apportant uniquement du carbonate en particules fines. Ceci suggère que des particules encore plus grosses ou présentant une cinétique de solubilisation plus lente à taille égale pourraient présenter un intérêt pratique en libérant du Ca soluble plus tard pendant la nuit. Leur intérêt serait d'autant plus évident chez les poules en fin de carrière qui présentent des signes d'une ostéolyse accrue et d'une ostésynthèse réduite (Gloux et al, 2020 b).

Les niveaux d'expression élevés en FGF23 observés chez ces poules en fin de cycle de production pourraient être le marqueur ou la cause de

l'inadéquation des apports P/Ca aux besoins (Gloux et al, 2020 b). Il conviendrait pour le démontrer de développer une méthode de dosage sur prélèvements sanguins issus de situations variées et collectés à plusieurs stades de la vie productive des poules.

Par ailleurs, les poules qui présentent une meilleure qualité de coquille semblent plus sujettes à l'ostéolyse, attestée par le dosage du marqueur CTX, dès le début de ponte et jusque tardivement, même si l'étude microultrastructurale ne permet pas de mettre en évidence de différence entre les lots sélectionnés sur la bonne ou mauvaise qualité de coquille (Pampouille et al, 2022). Elles présentent précocement des concentrations circulantes en 25OHD3 plus élevées, et en fin de ponte (96 semaines) des concentrations circulantes en 1,25OH3D3 plus élevées.

CONCLUSION

L'ostéoporose chez la poule reste un problème important qui conduit ou au moins prédispose à des troubles osseux sources de mal-être ou de réforme précoce de certains lots et ceci dans tous les systèmes de production. Des travaux restent à engager pour identifier des marqueurs non ou peu invasifs pour évaluer différentes stratégies nutritionnelles basées sur des apports plus précis en minéraux (Ca et P) ou en métabolites de la vitamine D en fonction du stade dans la carrière de la poule ou du stade physiologique à l'échelle de la journée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abe E. et al, 1992. J. Nutr. (112) 436-446
Al-Batshan H.A. et al., 1994. Poult.Sci., (73), 1590-1596
Bar A. and Hurwitz S., 1987. J. Nutr., (117), 1775-1779
Bishop S.C. et al., 2000. Br. Poult.Sci., (41), 33-40
Eusemann B.K. et al. , 2018. PLoS One 13 : e0194974
Franco-Jimenez D.J. and Beck M.M., 2005. Int.J. Poult.Sci. (4), 518-522
Frost T. and Roland D. 1990. Poult.Sci., (69), 2008-2016
Gloux A. et al, 2019. Poult Sci. (98), 6005-6018
Gloux A. et al, 2020 a Dom. Anim. Endocrinol. (72), 106407
Gloux A. et al, 2020 b. Sci. Rep. 10:21124 https://doi.org/10.1038/s41598-020-78106-7
Molnar A. et al. 2018. WPSJ, (74)
Nys Y. and Le Roy N. 2018 in: Vitamin D (Elsevier edit), Volume 1: Biochemistry, Physiology and Diagnostics, Fourth Edition pp 361.
Papouille E. et al, 2022. 14èmes JRA-PFG
Ren Z. et al., 2017. Poult.Sci., (96), 127-134
Sauveur B. 1992. INRA Prod. Anim, 5 (1), 19-28
Swiatkiewicz S. et al, 2017. WPSJ, (73 :1), 57-68
Toscano M.J. et al, 2020. Poult.Sci., (99), 4183-4194
Whitehead C.C. & Flemming R.H., 2000. Poult.Sci., (79), 1033-104

Figure 1. Représentation schématique des protéines et gènes impliqués dans le transport de Ca au travers de l'épithélium intestinal de poule (d'après Gloux et al, 2019)

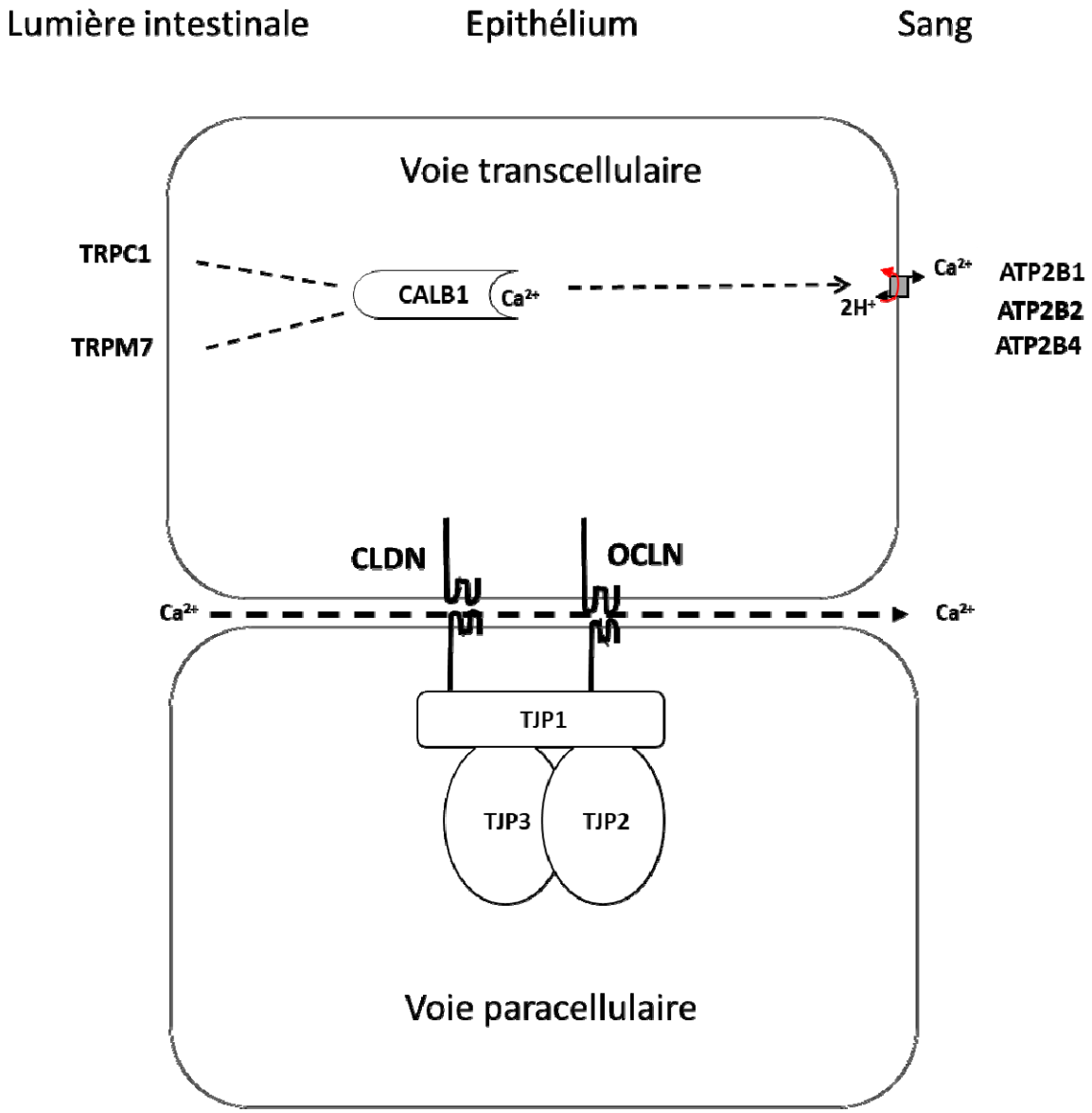
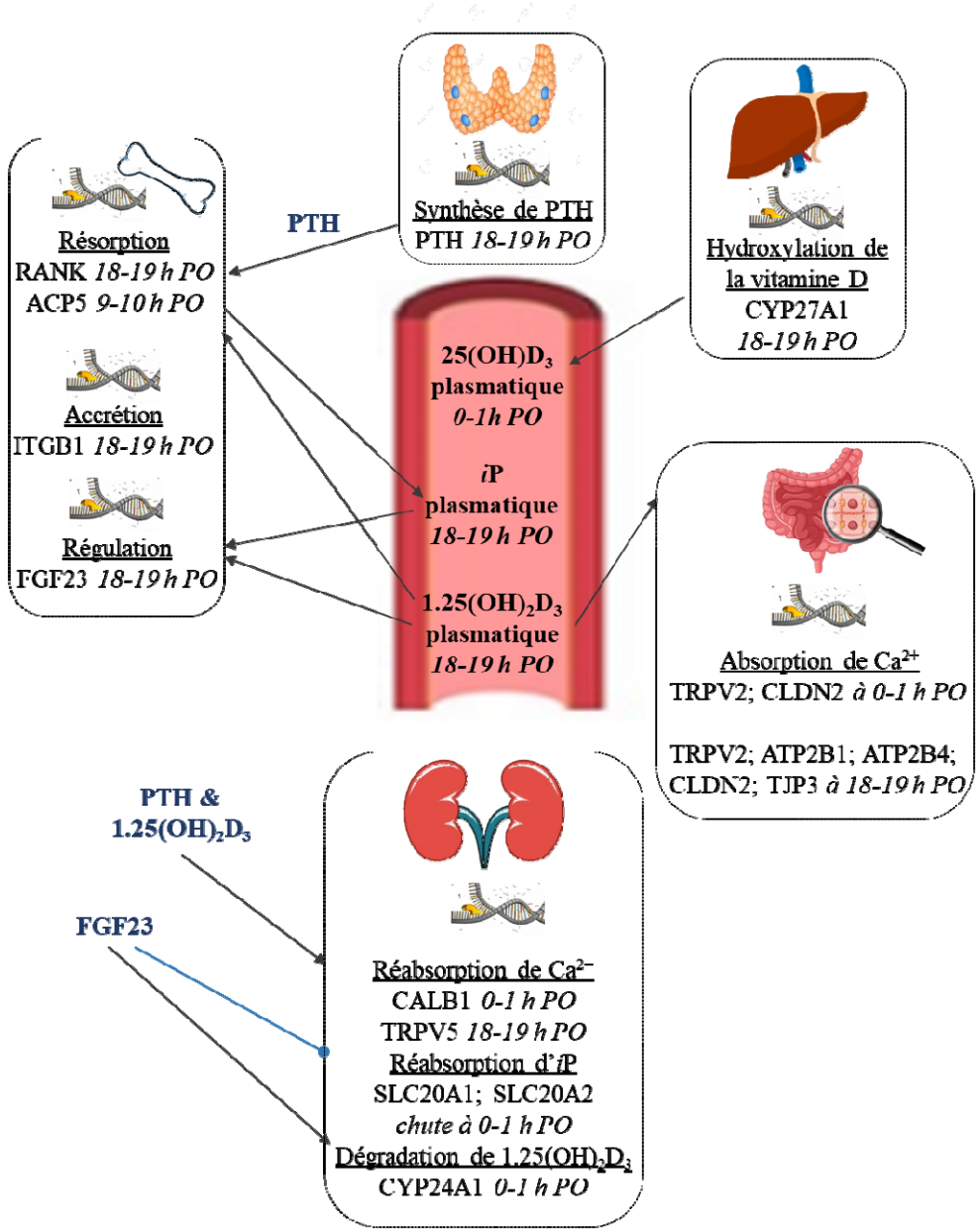


Figure 2. Représentation schématique des effecteurs de l'homéostasie phosphocalcique chez la poule et de leurs modifications au cours du cycle ovulatoire chez la poule (D'après Gloux et al, 2020 a). PO = Post Ovulation



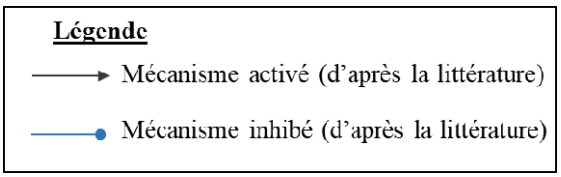


Tableau 1 : Evolution des paramètres du métabolisme calcique entre des poules au pic de ponte (23 semaines) et des poules en fin de ponte (90 semaines). Le tableau résume les résultats décrits dans la publication de Gloux et al, 2020b. PO = Post Ovulation

Tissu - fonction	Paramètres	90 vs 23 semaines
Glande parathyroïde	ARNm PTH	=
Plasma	[Ca] total	=
	[iP]	=
	[25 OH D3]	=
	[1,25 (OH)2D3]	-
Os médullaire		
- résorption	ARNm CA2, OPG	+
- ostéosynthèse	ARNm RANK (@ 9-10 h PO)	+
- régulation	ARNm COL1A1	-
	ARNm FGF23	+
Foie		
- métabolisme vit D	ARNm Cyp27A1	-
- récepteurs aux œstrogènes	ARNm ESR1 et ESR2	-
Jéjunum / absorption de Ca		
- transcellulaire	ARNm TRPM7 et TRPV2	-
	ARNm TRPC1 et ATP2B4	+
- paracellulaire	ARNm CLDN2 et TJP2	-
	ARNm OCLN (@ 0-1 h PO)	-
	ARNm CLDN12 (@ 9-10 h PO)	-
	ARNmTJP1	+
- régulation	ARNm VDR	-
Rein		
- réabsorption du Ca	ARNm TRPV5	-
- réabsorption du P	ARNm SLC34A1 et SLC20A1	-
- dégradation de vit D	ARNm CYP24A1 (@ 18-19 h PO)	+

SESSION NUTRITION

Communications orales

EFFETS DU TRAITEMENT DU BEC ET DE LA PRESENTATION D'UN ALIMENT BIOLOGIQUE CHEZ LES POULETTES ENTRE 0 ET 6 SEMAINES D'AGE

Marjolaine Lalanne-Rateau[1], Marie-Laure Godde[1], Laure Bignon[1], Maxime Quentin[1], Carole Margetyal[2]

[1]WISIUM France, Route de Talhouët, 56250 SAINT NOLFF
[2]ADM Rue de l'église, 02400 CHIERRY
marjolaine.lalannerateau@wisium.com

RÉSUMÉ

Le traitement du bec des poulettes a pour objectif de limiter les conséquences négatives du picage agressif mais cette pratique pourrait être abandonnée. L'effet de l'interaction entre le traitement du bec et la présentation de l'aliment sur le comportement alimentaire a été peu étudié, notamment pour des aliments biologiques, dont les apports en acides aminés essentiels sont limités.

L'objectif de l'essai est d'étudier la réponse des poulettes Lohmann Brown épointées (E) ou non-épointées (NE) à deux présentations d'un aliment biologique : miette tamisée (M) ou farine (F). Le dispositif comprenait 336 poulettes réparties selon un plan factoriel complet comprenant 48 cages : 2 traitements du bec x 2 présentations d'un même aliment x 12 répétitions. La consommation et la croissance des poulettes ont été évaluées pendant la période de 0 à 6 semaines d'âge.

Des interactions statistiquement significatives ($p<0,05$) ont été observées sur la consommation, le poids vif (PV) mais pas sur l'indice de consommation (IC). Les poulettes intactes consomment plus que les épointées, quelle que soit la présentation de l'aliment mais surtout en farine (M: +25%; F: +38% ; $p<0,05$). Cependant, seules les épointées nourries en farine ont un PV significativement plus faible que les 3 autres groupes. (PV EF : 404 g vs PV EM : 429g, PV NEF : 453g et PV NEM : 433g ; $p<0.0001$). Quelle que soit la présentation, l'IC des poules non épointées est dégradé (IC E : 2,81 et IC NE : 4,00 ; $p<0.0001$). La miette reste la présentation la mieux valorisée, que ce soit par des animaux épointés ou non épointés (IC F : 3,54 et IC M : 3,12 ; $p<0,007$).

Ces résultats montrent que les poulettes non-épointées surconsomment. Ce phénomène est probablement intensifié avec un aliment de type biologique, sub-carencé en acides aminés, entrainant une exacerbation du comportement de tri de la farine pour mieux équilibrer la ration. La forte dégradation d'IC qui en résulte serait, en grande partie, liée à un gaspillage de l'aliment.

ABSTRACT

Impacts of beak treatment and organic feed presentation on pullets performance between 0 and 6 weeks of age

The aim of beak treatment on pullets is to limit negative consequences of injurious feather peaking but this practice could be banned. The effect of interaction between beak treatment and feed presentation on feeding behaviour has been little studied, especially for organic feeds with limited essential amino acids contents. The objective of the trial was to study Lohmann Brown pullets performance, either beak-trimmed (BT) or not (NBT), fed with two different presentations (sieved crumbs: C and mash flour: F) of an organic feed. In the experiment a 2 by 2 complete factorial design included 336 pullets allocated to 48 cages: 2 beak treatments x 2 presentations of the same feed x 12 replicates. Pullet consumption and growth were assessed between 0 and 6 weeks of age.

Statistically significant interactions ($p<0.05$) were observed on feed intake, live weight but not on feed conversion ratio. Intact pullets consumed more than the beak-trimmed ones, regardless of the feed presentation but especially with mash flour (C: +25%; F: +38%; $p<0.05$). However, only the beak-trimmed pullets fed with mash flour had a significantly lower live weight (W), when compared to the other three groups. (W BT-F: 404g vs W BT-C: 429g, W NBT-F: 453g and W NBT-C: 433g; $p<0.0001$). Regardless of the presentation, feed conversion ratio (FCR) of the non-beak-trimmed birds was impaired in comparison with beak-trimmed ones (FCR BT: 2.81 and FCR NBT: 4.00; $p<0.0001$). Sieved crumb is the best feed presentation for young pullets, whether they are beak-trimmed or not (FCR F: 3.54 and FCR C: 3.12; $p<0.007$).

These results show that non-beak trimmed pullets overconsume. This trend shall be increased by organic type of feed, low in amino acids, leading to an exacerbation of the sorting behavior of the flour, in an attempt to better balance the ration. The resulting degradation of FCR could be largely related to feed wastage.

INTRODUCTION

L'élevage alternatif, notamment biologique, s'est beaucoup développé en France ces dernières années. En 2019, la proportion de poules en cages représentait déjà moins de 50% de la production (Service économie ITAVI, 2021). Cette évolution dans les modes d'élevage engendre une augmentation du nombre de contacts entre congénères. Les opportunités de picage augmentent donc (Guinebretière et al, 2020).
L'épointage permet de limiter les effets du picage entre congénères (Hartcher et al, 2015; Dennis et al, 2009). Cependant, cette pratique étant reconnue comme douloureuse (Quartarone et al, 2012), la prise en compte croissante du bien-être animal dans les élevages a déjà conduit à son interdiction dans les pays scandinaves, au Danemark, en Autriche, plus récemment aux Pays-Bas et pourrait être généralisée en Europe.
Or, le traitement du bec a un impact sur le comportement alimentaire des poules : les épointées mangent plus lentement mais plus fréquemment que les non-épointées (Persyn et al, 2004; Persyn et al, 2002) car elles sont moins habiles pour attraper l'aliment, surtout s'il est en couche fine dans les mangeoires (Prescott et Bonser, 2004). Durant la phase d'élevage, certains travaux ont permis de montrer que les poulettes épointées tardivement consommaient significativement moins que les non-épointées et donc avaient un indice de consommation amélioré par rapport à ces dernières (Blokhuis et al, 1987).
Le comportement alimentaire des poules non-épointées est modifié par la présentation de l'aliment : elles passent plus de temps à consommer de la farine que du granulé, ce qui suggère qu'elles utilisent la farine pour exprimer un comportement naturel de recherche de nourriture (Aerni et al, 2000). Il est donc intéressant de vérifier si ce type de comportement s'exprime aussi en phase d'élevage, lorsque de la farine est proposée en comparaison avec de la miette.
Cette étude, menée sur Lohmann Brown Tradition nous a permis de mesurer l'impact de l'arrêt de l'épointage et de la présentation miette ou farine, d'un aliment biologique (limités en acides aminés essentiels) sur la consommation et la croissance en phase de démarrage. Optimiser la nutrition des poulettes sur cette première phase d'élevage est essentiel pour assurer un bon démarrage de ponte (Travaux SFPA Groupe HENDRIX). Ceci est d'autant plus vrai en production biologique, où la montée du calibre se fait dans un contexte de teneurs en méthionine limitantes. En effet, plus le poids est élevé à 6 semaines, plus le calibre des œufs est élevé (Données internes WISIUM).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Dans un bâtiment expérimental d'ADM, 336 poulettes d'1 jour Lohmann Brown Tradition ont été réparties selon un plan factoriel complet comprenant 48 cages : 2 traitements du bec (épointé ou non) X 2 présentations d'un même aliment (miettes tamisées ou farine) x 12 répétitions. Cette étude porte uniquement sur la période de démarrage entre 1 et 42 jours.

Le programme lumineux et la température de consigne du bâtiment sont similaires pour tous les traitements et respectent les préconisations sélectionneurs.

Les valeurs nutritionnelles de l'aliment distribué ne changent pas sur la période de l'essai et sont identiques entre l'aliment présenté en miettes tamisées (M) et l'aliment présenté en farine (F) (protéine brute 21,4% ; lysine digestible 0,92%, méthionine digestible 0,34%). Les aliments ont été fabriqués par une usine de la coopérative Le Gouessant (UFAB, Noyal sur Vilaine) suivant leurs paramètres de fabrication habituels et avec les mêmes lots de matières premières pour les deux présentations. Ils sont distribués *ad-libitum* et les relevés de consommation sont réalisés au moment des pesées, à 7 et 41 jours.

A 43 jours, 20 poules, sélectionnées sur la base d'un poids homogène à 41 jours et cohérent avec le poids moyen de l'ensemble des poules du traitement, sont prélevées pour la mesure de la taille des tibias et du niveau de minéralisation ainsi que pour la mesure du poids des gésiers.

1.2. Analyse des aliments

Un échantillon représentatif de chacun des aliments a été prélevé à réception à la station expérimentale et analysé par le laboratoire UPSCIENCE (Saint-Nolff et Chierry). Un profil granulométrique a été réalisé pour valider la différence de tailles de particules entre la présentation farine et la petite miette tamisée. Les valeurs nutritionnelles (humidité, protéine, cellulose, matière minérale, matière grasse amidon et lysine) ont été contrôlées.

1.3. Analyses statistiques

Le traitement statistique a été réalisé avec le logiciel R (v 3.1.2). Après avoir retiré les valeurs aberrantes identifiées grâce à une approche descriptive de la distribution des données, les variables (poids, GMQ, consommation, indice de consommation) ont été soumises à une analyse de variance à 2 facteurs (ANOVA) utilisant un plan factoriel complet 2x2, considérant les variables présentation et traitement du bec, seules et en interaction, comme les facteurs fixes du modèle.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Conformité des aliments

Les profils granulométriques sont conformes. La D50 de la farine est de 1082µm (Sg 2,21) et celle de la miette 1883µm (Sg 1,65). Comme attendu, la présentation farine est plus fine avec une dispersion de la taille des particules plus importante.

Les valeurs nutritionnelles sont considérées comme conformes et similaires pour les 2 présentations.

2.2 Effet de la présentation de l'aliment et du traitement du bec

Des interactions statistiquement significatives ($p<0.05$) ont été observées sur la consommation, le GMQ et le poids vif en fin de périodes (0-7 jours et 0-42 jours) *Tableau 1*.
Les poulettes non-épointées ont une consommation supérieure à celle des épointées et cette différence s'accentue lorsque la présentation est en farine, à la fois sur la période de démarrage (0-7 jours) (M : +9%; F : +19% ;$p<0,05$) et la période globale (0-42 jours) (M : +25%; F : +38% ;$p<0,05$). *Tableau 2*
Cependant, concernant la croissance, seules les épointées nourries avec de la farine ont un poids vif significativement plus faible que les 3 autres groupes à 42 jours (PV EF : 404 g vs PV EM : 429g, PV NEF : 453g et PV NEM : 433g ; $p<0.0001$). Ainsi, la croissance des non-épointées ne diffèrent pas de celle des épointées nourries avec de la miette.
Les épointées nourries avec de la farine ou de la miette ont une consommation similaire. Or comme vu ci-dessus, les épointées nourries avec de la farine ont le poids vif le plus faible à 42 jours. Les épointées ne valorisent donc pas correctement l'aliment lorsqu'il est en farine, même si, dans cette étude, cela ne suffit pas à dégrader significativement leur IC sur la période par rapport à celles nourries avec de la miette. Des travaux sur les poulets (non-épointés donc) ont montré que la présentation en farine dégrade l'efficacité alimentaire par rapport à une présentation miette sur la période de démarrage (Lv et al, 2015; Serrano et al, 2012; Jafarnejad et al, 2010). Même si les résultats vont dans le même sens, l'épointage limiterait donc l'effet de la farine sur la dégradation de l'IC. La surconsommation par les non-épointées sans amélioration significative de la croissance par rapport aux épointées nourries avec de la miette engendre une dégradation de l'indice de consommation (IC) sur la période globale (0-42 jours), quelle que soit la présentation (IC E : 2,81 et IC NE : 4,00 ; $p<0,0001$). Cela va dans le sens des observations faites par (Bozkurt et al, 2019) qui ont montré que les poulettes nourries avec de la miette consomment moins d'aliment et ont un meilleur IC. De plus, du gaspillage a été observé los de l'essai (non mesuré). Ce qui va dans le sens des observations de (Aerni et al, 2000) sur l'utilisation de l'aliment en farine pour exprimer un comportement naturel de recherche de nourriture. Sur la période de démarrage (0-7 jours) il y a une interaction pour l'indice de consommation entre la présentation de l'aliment et le traitement du bec ($p<0,05$). Lorsque l'aliment est présenté en farine plutôt que miette, les épointées ont un indice de consommation encore plus dégradé (+41%) que les non-épointées (+22%).
La miette reste donc bien la présentation la mieux valorisée, que ce soit par des animaux épointés ou non épointés (IC F : 3,54 et IC M : 3,12 ; $p<0,007$).

2.3 Développement corporel

Les poulettes non-épointées nourries en farine tendent à avoir le poids vif le plus élevé à 42 jours ainsi que la longueur de tibia la plus élevée. (Cf. tableau 2). Ce qui est conforme avec les observations de (Applegate et Lilburn, 2002) sur des poulets en croissance.

Sur une période de croissance plus longue des poulettes que dans cet essai, (Bozkurt et al, 2019) ont montré que les poulettes nourries avec de la farine ont un gésier plus gros que celles nourries avec de la miette. Mais dans cette étude, en période de démarrage, il ne semble pas y avoir d'effet de la présentation de l'aliment sur le développement du gésier, dont le poids semble surtout corrélé au poids vif: Ce sont les poulettes ayant le poids vif le plus faible (épointées nourries en farine) qui ont le poids de gésier le plus faible.

CONCLUSION

Sur la période de démarrage entre 0 et 42 jours, les poulettes non-épointées surconsomment l'aliment par rapport aux épointées, que la présentation soit en miette ou en farine. Pour autant, leur croissance n'est pas significativement supérieure ce qui entraine une dégradation de l'indice de consommation. Les non-épointées auraient donc un comportement de tri exacerbé entrainant du gaspillage. Ce comportement alimentaire pourrait s'expliquer à la fois par la plus grande facilitée des non-épointées à choisir les particules dans l'aliment et la nécessité d'y chercher celles correspondant à leurs besoins nutritionnels ainsi que par l'utilisation de la farine pour exprimer un comportement naturel de recherche de nourriture. Il serait intéressant de vérifier si ce comportement alimentaire est exacerbé dans un contexte d'aliment biologique, limité en acides aminés, en comparaison avec un aliment conventionnel.

Pour optimiser la croissance tout en limitant la hausse de l'indice de consommation des poules non-épointées nourries avec un aliment biologique, la

présentation en miettes reste recommandée entre 0 et 42 jours d'âge.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aerni V., El-Lethey H., Wechsler B., 2000. British Poultry Science, (41), 16–21.
Applegate T.J., Lilburn M.S., 2002. Poultry Science, (81), 1289–1294.
Blokhuis H.J., van der Haar J.W., Koole P.G., 1987.
Bozkurt M., Koçer B., Ege G., Tüzün A.E., Bıyık H.H., Poyrazoğlu E., 2019. Poultry Science, (98), 4016–4029.
Dennis R.L., Fahey A.G., Cheng H.W., 2009. Poultry Science, (88), 38–43.
Guinebretière M., Mika A., Michel V., Balaine L., Thomas R., Keïta A., Pol F., 2020. Animals, (10).
Hartcher K.M., Tran K.T.N., Wilkinson S.J., Hemsworth P.H., Thomson P.C., Cronin G.M., 2015. Poultry Science, (94), 852–859.
Jafarnejad S., Farkhoy M., Sadegh M., Bahonar A.R., 2010. Veterinary Medicine International, (2010).
K.E. Persyn, H. Xin, A. Ikeguchi, R.S. Gates, 2002. In : American Society of Agricultural and Biological Engineers (Eds), 2002 Chicago, IL July 28-31, 2002, St. Joseph, MI. Consultable : http://elibrary.asabe.org/abstract.asp?JID=5&AID=10477&CID=cil2002&T=1.
Lv M., Yan L., Wang Z., An S., Wu M., Lv Z., 2015. Animal Nutrition, (1), 252–256.
Persyn K.E., Xin H., Nettleton D., Ikeguchi A., Gates R.S., 2004. Consultable : https://lib.dr.iastate.edu/.
Prescott N.B., Bonser R.H.C., 2004. Journal of Applied Poultry Research, (13), 468–471.
Quartarone, della Roca, Passantino, 2012. Large Animal Review, (October), 245–252.
Serrano M.P., Valencia D.G., Méndez J., Mateos G.G., 2012. Poultry Science, (91), 2838–2844.
Service économie ITAVI, 2021.

Tableau 1 : interaction entre les traitements

	Bec		Présentation		Probabilités	
	Non-épointées	**Epointées**	**Farine**	**Miette tamisée**	**Model**	**Interaction Bec * présentation**
Période 0-7 jours						
Poids 0j (g)	37.00	37.00	37.00	37.00	1.00	1.00
Std Dev	*1.83*	*1.82*	*1.82*	*1.82*		
Poids 7j (g)	62.74	58.19	58.29	62.85	<0.01	<0.05
Std Dev	*2.39*	*5.13*	*4.56*	*3.33*		
GMQ (g/jour)	3.65	3.04	3.03	3.70	<0.01	<0.05
Std Dev	*0.28*	*0.73*	*0.62*	*0.43*		
Consommation (g/jour)	8.89	7.50	8.36	7.88	<0.01	<0.05
Std Dev	*0.74*	*0.67*	*1.14*	*0.69*		
IC	2.44	2.59	2.82	2.13	<0.01	<0.05
Std Dev	*0.31*	*0.57*	*0.39*	*0.18*		
Période 0-42 jours						
GMQ (g/jour)	9.68	9.06	9.30	9.45	<0.01	<0.01
Std Dev	*0.40*	*0.56*	*0.72*	*0.39*		
Consommation (g/jour)	38.99	25.24	33.26	29.62	<0.01	<0.05
Std Dev	*4.16*	*2.37*	*8.59*	*5.71*		
IC	4.00 b	2.81 a	3.54	3.12	<0.01	0.47
Std Dev	*0.43*	*0.30*	*0.74*	*0.60*		
Poids 42j (g)	442.64	417.03	428.23	431.30	<0.01	<0.01
Std Dev	*19.23*	*22.93*	*30.91*	*17.55*		

Tableau 2 : Performances des poulettes sur les périodes 0-7 jours et 0-42 jours

		TRAITEMENTS				
		Non-épointées Farine	**Non épointées Miette**	**Epointées Farine**	**Epointées Miette**	**Probabilité**
Poids (g)						
0j		**37.0**	**37.0**	**37.0**	**37.0**	**1.00**
	ET	1.9	1.9	1.9	1.9	
7j		**61.8 b**	**63.8 b**	**55.1 a**	**61.9 b**	**<0.001**
	ET	2.1	2.3	3.7	4.0	
42j		**452.7 c**	**433.4 bc**	**403.7 a**	**429.2 b**	**<0.001**
	ET	13.1	19.7	22.7	15.6	
Gain de poids (g/j)						
0-7j		**3.5 b**	**3.8 b**	**2.6 a**	**3.6 b**	**<0.001**
	ET	0.2	0.3	0.5	0.5	
0-42j		**9.9 b**	**9.5 b**	**8.7 a**	**9.4 b**	**<0.001**
	ET	0.3	0.4	0.5	0.4	
Consommation (g/ j)						
0-7j		**9.3 c**	**8.3 b**	**7.5 a**	**7.5 a**	**<0.001**
	ET	0.7	0.3	0.7	0.7	
0-42j		**41.1 c**	**35.2 b**	**25.4 a**	**24.9 a**	**<0.001**
	ET	3.5	2.1	2.7	2.0	
Indice de consommation						
0-7j		**2.65 b**	**2.17 a**	**2.98 c**	**2.11 a**	**<0.001**
	ET	0.22	0.18	0.46	0.18	
0-42j		**4.17 b**	**3.70 b**	**2.92 a**	**2.64 a**	**<0.001**
	ET	0.43	0.24	0.30	0.24	
Poids gésier 42j (g)		**18.96 b**	**18.18 b**	**15.8 a**	**18.16 b**	**<0.001**
	ET	2.5	1.7	1.9	2.2	
Longueur tibia 42j (mm)		**41.12 b**	**39.46 a**	**39.34 a**	**39.83 b**	**<0.001**
	ET	1.2	1.2	1.3	1.1	

IMPACTS DE L'UTILISATION DE MORINGA OLEIFERA DANS L'ALIMENTATION DES POULES PONDEUSES DE SOUCHE ISA BROWN

Voemesse Kokou[1,2], Kouamé Yaa, Aimée Emmanuelle[1], Ngueda Djeuta Odile[1], N'nanlé Oumbortime[1], Lombo Yao[2], Tona Kokou[1]

1 Centre d'Excellence Régional sur les Sciences Aviaires (CERSA), BP 1515 Lomé
2 Institut Togolais de Recherche Agronomique (ITRA), BP 1163 Lomé

voemessekokou@gmail.com

RÉSUMÉ

La suppression des antibiotiques, facteurs de croissance en aviculture a favorisé la recherche des alternatives dont les phytobiotiques. *Moringa Oleifera* à cause de ses propriétés médicinales et valeurs nutritives auraient des effets positifs sur les performances de production des volailles. L'objectif de cet essai était de mesurer les effets d'un produit végétal dans la ration sur les performances zootechniques et des paramètres sanguins des poules pondeuses. Une ration témoin (T0) a été comparée à une ration contenante 1% (T1) et 3% (T3) des feuilles de *Moringa oleifera*, pendant 55 semaines avec 450 poussins. La consommation alimentaire, le taux de ponte et les paramètres biochimiques étaient mesurés au cours de l'essai. Les données étaient traitées par le logiciel Graph Pad avec le test ANOVA one-way. Les moyennes étaient comparées par le test TUKEY au seuil de 5%. Comme résultat, la consommation alimentaire était réduite ($p<0,05$) dans T1 et T3. T1 avait des augmentations significatives des triglycérides, du calcium ($p<0,01$) et du taux de ponte ($p<0,05$). Les triglycérides chez le sujet de T3 étaient réduits ($p<0,05$) mais avaient un taux de ponte comparable au témoin. En conclusion, l'effet des feuilles chez les poules pondeuses est dose dépendante. A 1% elles stimulent le métabolisme calcique et lipidique résultant à une augmentation du taux de ponte. Il convient donc d'encourager l'utilisation de 1% des feuilles de *Moringa oleifera* dans la ration des poules pondeuses.

ABSTRACT

Impacts of moringa oleifera leaf meal on Isa brown strain layers

The withdraw of antibiotics, growth factors in poultry farming, has encouraged the search for alternatives, including phytobiotics. *Moringa Oleifera* due to its medicinal properties and nutritional values would have positive effects on bird's performance. This study was conducted to investigate the effect of *Moringa oleifera* leaf meal (MOLM) on blood parameters and productive performance. A total of 450-day-old chicks were assigned to three dietary treatments of basal diet supplemented with 0%, 1% and 3% MOLM. Data were collected on egg production and for biochemical parameters analysis. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 5 by using One -way ANOVA test. Tuckey multiple range test was used to test difference of means. Results showed that feed intake was reduced in birds fed 1% and 3% of *M. oleifera*. Higher plasma calcium, triglyceride level ($p<0.01$) and egg production ($p<0.05$) were recorded in birds fed 1% M. oleifera in the diet. However, lower triglyceride was recorded in the birds fed 3% of MOLM with eggs production comparable to control group. To conclude, the effect of MOLM in layer-type diet is dose dependent. 1% of MOLM stimulate the metabolism of calcium and lipid resulting in an increase in egg production. The use of 1% of *Moringa oleifera* leaves in layer-type diet should therefore be encouraged.

.

1. INTRODUCTION

La productivité des volailles dans les pays en développement est généralement faible et les contraintes majeures sont la disponibilité de certains ingrédients en concurrence directe avec l'alimentation humaine et le retrait des antibiotiques facteurs de croissance qui améliorait la productivité des animaux. Ainsi, la recherche et la valorisation de ressources alternatives localement disponibles sont nécessaires pour augmenter la productivité des animaux. Parmi les alternatives, se trouvent les phytobiotiques dont *Moringa oleifera* qui possède une forte quantité d'énergie métabolisable et des protéines brutes (Yameogo et al., 2011 ; Moyo et al., 2011), des nutriments (vitamines et sels minéraux.) (Moyo et al., 2011 ; Foidl et al., 2001) et des métabolites secondaires (Divya et al., 2014 ; Bennett et al., 2003). Des résultats avaient montré que l'incorporation de 1% et 3% des feuilles de *Moringa oleifera* dans la ration avait amélioré la productivité des poules pondeuses (Voemesse et al., 2019). Bien que ces résultats soient expliqués par l'augmentation significative des protéines totales et de l'albumine, il n'en demeure pas moins que d'autres paramètres biochimiques soient aussi impliqués. Des études ont montré que les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent jusqu'à 3,83 % de flavonoïdes (Nweze et al., 2014) qui sont des phytoestrogènes (Zade et Dabhadkar, 2013) capables d'agir sur tous les tissus qui possèdent des récepteurs hormonaux aux œstrogènes (Barnes et al., 2000). Il est alors nécessaire d'approfondir les connaissances sur les mécanismes par lesquels les phytomolécules de *Moringa oleifera* agissent in vivo pour améliorer les performances de production.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Dispositif expérimental

L'essai d'une durée de 55 semaines était réalisé en station au CERSA (Centre d'Excellence Régional sur les Sciences Aviaires) de l'Université de Lomé. Les matériels biologiques utilisés étaient des poussins type ponte d'un jour d'âge de souche Isa Brown importés de la société INCUBEL (Belgique) et des feuilles sèches de *Moringa oleifera* fournies par un producteur local. Au premier jour de l'essai, 450 poussins étaient pesés puis répartis en trois traitements (T0, T1 et T3) avec cinq parquets par traitement. Chaque parquet au sol de 6m2 comporte 30 animaux (5 animaux/m2). Le traitement T0 a reçu la ration témoin, le T1 et le T3, la ration contenant respectivement 1% et 3% des feuilles. Les rations formulées étaient iso-énergétiques et iso-protéiques et chaque type de ration satisfait les besoins protéiques (protéine brute) et énergétiques (énergie métabolisable) des volailles en fonction de leur stade de développement (Tableau 1 à 3).

2.2. Paramètres collectés

-Paramètres biochimiques et hématologiques

Un volume moyen de 10ml de sang était prélevé à 5; 15; 25; 35; 45 et 55 semaines d'âge au niveau de la veine alaire de 15 sujets par groupe (3 par parquet) dans un tube sec puis centrifugé. Le sérum obtenu a fait objet d'analyse des paramètres biochimiques (le cholestérol total, les triglycérides, calcium et le phosphore). Les constituants étaient dosés avec un spectrophotomètre Modèle BA-88A Mindray (Shenzhen 518057, China) en utilisant les réactifs fournis par le laboratoire BIOLABO (02160 MAIZY, France).

-Paramètres de production

A la fin de chaque semaine et jusqu'à la 55eme semaine, la quantité d'aliment consommée était mesurée puis ramenée par phase d'élevage. Pendant la phase de production, le nombre d'œufs (N) et la masse (M) des œufs étaient collectés. A la fin de chaque semaine, le taux de ponte (%) et l'indice de consommation étaient calculés selon les formules suivantes :

-Taux de ponte=100 (∑N)/(effectif x période (jour))

- IC= (quantité d^' aliment consommée(g/sujet/jr))/(Masse d^' oeuf(g/sujet/Jr))

2.3. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont traités par le logiciel Graph Pad avec le test ANOVA one- way (Analyse of Variance). Les moyennes étaient comparées par le test TUKEY et la probabilité $P<0,05$ était considérée comme le seuil de signification.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Résultats

Effets des feuilles de *Moringa olifera* sur les concentrations sériques du calcium et du phosphore

A la 5eme semaine d'âge, la concentration du calcium de T1 et T3 était supérieure ($p<0, 05$) à celle du T0. A la 15eme et à la 25eme semaine d'âge, la concentration du calcium avait augmenté sans variation significative entre les traitements ($p>0,05$). De la 35eme à la 55eme ^{semaine} d'élevage, le calcium était plus élevé chez les sujets du T1 ($p <0,01$) suivis des sujets du T3 ($p <0,05$) comparés au T0 (Figure 1). La concentration du phosphore, comme indiquée par la figure 2, était dans l'ordre T0< T1< T3 ($p <0,05$).

Effets des feuilles de *Moringa olifera* sur les concentrations sériques des triglycérides et du cholestérol total

La concentration en triglycérides des sujets dans tous les lots était comparable de la 5eme à la 25eme semaine d'âge (Figure 3). A partir de la 35eme semaine d'âge, la concentration en triglycérides des sujets du T1 était la plus élevée ($p<0,01$). A 5 semaines d'âge, le cholestérol total des sujets de T1 et T3 était supérieur ($p< 0,05$). A 15 semaines d'âge, seuls les sujets du T3 avaient une diminution significative ($p< 0,05$) de la concentration en cholestérol total par rapport au témoin. A la 25eme et la 35eme semaine puis à la 55eme semaine d'âge, le cholestérol des sujets du T1 et T3 était plus élevé ($p< 0,05$) par rapport au témoin (Figure 4).

Effets des feuilles de *Moringa olifera* sur les paramètres de production

La consommation alimentaire était identique entre les traitements pendant la phase d'élevage, mais réduite ($p < 0,05$) chez les sujets du T1 et T3 pendant la phase de production (Figure 5). D'une manière générale, le taux de ponte des sujets du T1 était supérieur ($p <0,05$) comparé aux sujets des traitements T0 et T3 (Figure 6). Le poids moyen des œufs, était dans l'ordre : T0<T1<T3 ($p< 0,05$) (Figure 7). L'indice de consommation était comparable entre T1 et T3 et significativement plus faible ($p <0,05$) que celui du témoin (Figure 8).

3.2. Discussion

L'élévation du calcium chez les sujets des lots T1 et T3 observée dans notre essai pourrait provenir des phytoœstrogènes qui jouent un important rôle dans le métabolisme calcique. Cependant, l'altération du calcium chez les sujets T3 par rapport aux sujets T1, pourrait provenir d'un effet antagoniste dans la mobilisation du calcium. En effet, *Moringa oleifera* possède des flavonoïdes qui ont des propriétés œstrogèniques (Zade et al., 2013) capables de se lier aux récepteurs des œstrogènes. Lampe et al. (1999) avait montré qu'après utilisation de longue durée des produits végétaux à propriété oestrogénique, le taux circulant de phytœstrogène peut être élevé. Or les hormones agissent à faible dose. Donc la diminution du calcium du T3 par rapport au T1 proviendrait d'un effet inhibiteur de la mobilisation du calcium dû à un taux élevé du phytœstrogène circulant. Cette hypothèse est soutenue par des auteurs qui ont montré que les propriétés œstrogèniques des feuilles de Monringa dans l'augmentation du poids et la dentellisation de l'utérus des rates immatures (Zade et al., 2013) ou le rôle des phytoestrogènes dans la minéralisation osseuse (Sahin et al., 2006) et dans le métabolisme calcique (Gjorgovska et al., 2016). Lorentz et al. (1983) avaient montré que l'augmentation du métabolisme lipidique hépatique chez les pondeuses à l'oviposition coïncide avec une production importante d'œstrogène. L'élévation des triglycérides chez les volailles pendant la production d'œufs dans tous les lots serait donc due à l'activité de cette hormone. Cependant, à l'instar des ions calcium, les phytohormones auraient stimulé la biosynthèse des triglycérides chez les sujets consommant 1% des feuilles dans la ration d'où leurs triglycérides sériques très élevés. Ainsi, ces sujets disposent de plus de réserve énergétique pour les métabolismes cellulaires. Ces résultats corroborent ceux de Teteh et al. (2016) qui avaient observé une élévation des triglycérides chez les pondeuses soumises à une ration contenant 1% des feuilles de *Moringa oleifera* pendant 40 semaines. L'augmentation du cholestérol total observée chez les sujets traités pendant la période de production indique bien un lien entre le métabolite et la physiologie de la poule pondeuse. En effet, le cholestérol est le principal précurseur des hormones ovariennes, du vitellus, de l'acide biliaire et sa diminution affecterait négativement les performances de production chez les pondeuses. Les performances de production selon une ancienne étude (Scanes, 1984) sont liées à la libération importante de l'œstrogène à l'oviposition qui est une hormone stéroïdienne impliquée dans la régulation du métabolisme calcique et lipidique hépatique ainsi que dans le fonctionnement de l'appareil reproducteur. Dans notre essai, la faible production d'œuf observée dans le T0 serait due à une faible sécrétion d'œstrogène endogène car ces sujets possèdent une faible concentration sérique du calcium comparée aux lots T1 et T3. Cette faible sécrétion d'œstrogène aurait des répercussions sur le développement et le fonctionnement de l'appareil reproducteur des volailles expliquant d'avantage leur performance. Chez les sujets du T1, l'action de l'œstrogène endogène serait complétée par les phytoœstrogènes induisant l'augmentation du métabolisme lipidique et calcique. Ainsi, les volailles du T1 qui possèdent plus des triglycérides et du calcium auraient utilisé ces nutriments pour produire plus d'œufs. En revanche, les hormones agissant à faible dose, les animaux du T3 seraient exposés à une concentration trop élevée d'œstrogène (œstrogène endogène plus phyto-œstrogènes) avec comme conséquence une diminution de biosynthèse des triglycérides et de la mobilisation du calcium. De plus, les phyto-œstrogènes agiraient aussi par rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus. Cette rétroaction va diminuer la libération de FSH avec comme conséquence une réduction du fonctionnement ovarien chez les sujets du T3 expliquant en partie leur résultat. Teteh et al. (2016) ont par ailleurs observé une réduction du poids de la grappe ovarienne et du nombre de follicules ovariens chez les pondeuses nourries avec 2% des feuilles de *Moringa oleifera* dans la ration pendant 40 semaines. Si les phyto-micronutriments ont stimulé le métabolisme calcique et la biosynthèse des triglycérides et plus tard la ponte chez les sujets du T1, ils ont agi sur le calibre des œufs dans le groupe T3. Cette augmentation du poids des œufs serait due à la stimulation de la synthèse de l'albumine utilisée dans la synthèse de l'albumen de l'œuf. Cette hypothèse est soutenue par les essais de

Voemesse et al. (2019) qui ont observé une augmentation de l'albumine chez les poules pondeuses recevant dans leurs rations les feuilles de *Moringa oleifera.* L'augmentation des poids des œufs observés dans T3 explique l'amélioration de son indice de consommation par rapport au lot témoin.

A l'issu de cette étude nous pouvons conclure que l'utilisation à long terme de 1% des feuilles de *Moringa oleifera* dans la ration des poules pondeuses avait stimulé le métabolisme calcique, la synthèse des triglycérides et ensuite le taux de ponte. A 3%, les feuilles augmentent le poids des œufs améliorant ainsi l'indice de consommation par rapport au témoin. Cependant, le rapport coût bénéfice reste à évaluer car l'utilisation des feuilles représente un surcoût important pour la fabrication de l'aliment.

Tableau 1 : Composition et caractéristiques de l'aliment démarrage

Ingrédients	T0	T1	T3
Maïs	56	55,62	54,87
Son cubé	11	10,74	10,23
Farine de poisson	8	8	7,8
Soja torrifié	20	19,64	19,1
Concentré	4	4	4
Coquille	1	1	1
Moringa oleifera	0	1	3
Total	100	100	100
Caractéristiques			
E.M (Kcal/Kg)	2962,50	2962,01	2962,24
Proteine Brute (%)	20,11	20,11	20,11
Calcium (%)	0,97	0,97	0,96
Phosphore (%)	0,74	0,73	0,72
Lysine totale (%)	1,09	1,08	1,06
Methionine totale (%)	0,48	0,48	0,47
Meth. + cysteine (%)	0,72	0,71	0,70

E.M : Énergie Métabolisable

Tableau 2 : Composition et caractéristiques de l'aliment poulette

Ingrédients	T0	T1	T3
Maïs	56	55,62	54,87
Son cubé	11	10,74	10,23
Farine de poisson	8	8	7,8
Soja torrifié	20	19,64	19,1
Concentré	4	4	4
Coquille	1	1	1
Moringa oleifera	0	1	3
Total	100	100	100
Caractéristiques			
E.M (Kcal/Kg)	2740,69	2740,03	2740,10
Proteine Brute (%)	20,11	20,11	20,11
Calcium (%)	0,97	0,97	0,96
Phosphore (%)	0,74	0,73	0,72
Lysine totale (%)	1,09	1,08	1,06
Methionine totale (%)	0,48	0,48	0,47
Meth. + cysteine (%)	0,72	0,71	0,70

E.M : Énergie Métabolisable

Tableau 3 : Composition et caractéristiques de l'aliment ponte

Ingrédients	T0	T1	T3
Maïs	58	57.5	56.75
Son cubé	8	7.9	7.35
Farine de poisson	8	7.6	7.6
Soja torrifié	17	17	16.3
Concentré	2	2	2
Coquille	7	7	7
Moringa oleifera	0	1	3
Total	100	100	100
Caractéristiques			
E.M (Kcal/Kg)	2835,23	2835,89	2835,29
Proteine Brute (%)	17.67	17.68	17.69
Calcium (%)	2.58	2.56	2.56
Phosphore (%)	0.62	0.61	0.60
Lysine totale (%)	0.96	0.94	0.92
Methionine totale (%)	0.40	0.39	0.39
Meth. + cysteine (%)	0.61	0.60	0.58

E.M : Énergie Métabolisable

Figure 1 : **Evolution de la concentration** du calcium des poulets. A chaque âge, *indique la différence significative entre les traitements. ($p < 0,05$)

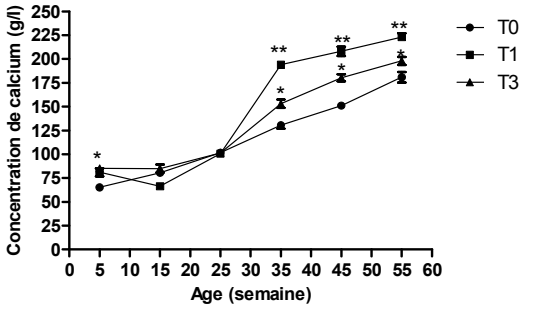


Figure 2 : Concentration du phosphore des poulets. A chaque âge, *indique la différence significative entre les traitements. ($p < 0,05$).

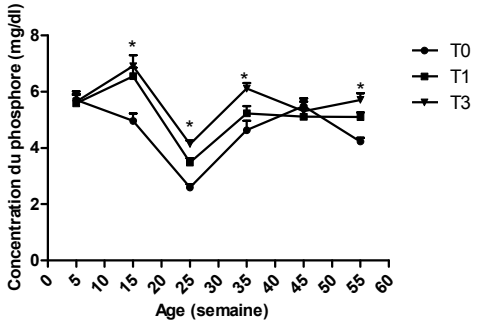


Figure 3 : Concentration de triglycéride des poulets. A chaque âge,* indique la différence significative entre les traitements ($p < 0,05$).

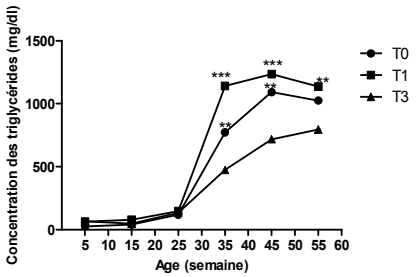


Figure 4: Concentration du cholestérol des poulets. A chaque âge, * indique la différence significative entre les traitements ($p < 0,05$).

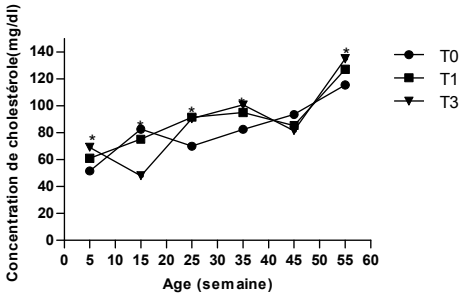


Figure 5 : Effets sur la consommation alimentaire. Les valeurs avec les lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

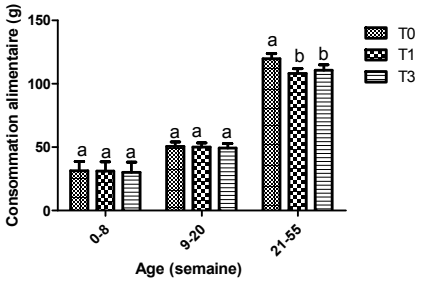


Figure 6 : Effets sur la ponte. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

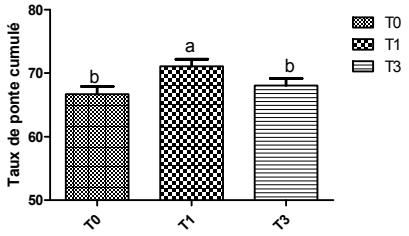


Figure 7 : Effets sur les poids des œufs. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

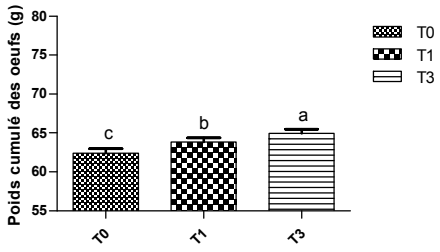
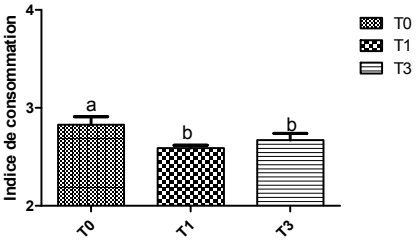


Figure 8 : Effets sur l'indice de consommation. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bennett R.N., Mellon F.A., Foidl N., Pratt J.H. Dupoint S.M., Perkins L., Kroon P.A. 2003. J. Agri Food Chem., (51), 3546-3553.
Divya A.B., Mandal Biswas A.K., Yadav A.S. 2014. Anim.Nutri. and Feed Tech., (14), 349-357
Elkin R. 2006. Worlds Poult. Sci. J,. (62) 665-687
Foidl N., Makkar H.P.S., Becker K. 2001. CTA Publication, Wageningen, The Netherlands, pp. 45-76
Georgieva V., Denev ST., Marinov B. 2000. Zhivotnov"dni Nauki. (37)., 19-23
Lorentz F. W.. Entenman C., Chaikoff I. L. 1983. J. Biol. Chem. (117) 619-663.
Moyo B., Patrick J.M., Arnold H., Voster M. 2011. Afr .J. Biotechnol., (10)12925-12933.
Nweze, N. O. and Nwafor, F. I. 2014. IOSR-JPBS, (9) 99-103.
Richter N., Perumal S., Becker K. 2003. Aquaculture., (217) ,599-611.
Sahin N., Onderci M., Balci T. A., Cikim G., Sahin K., Kucuk O. 2007. Br. Poult. Sci.(48),363–369.
Scanes, C.G. 1984. In: Reproductive Biology of Poultry. F.J. Cunningham, P.E. Lake, and D. Hewitt, eds. Br. Poult. Sci. LTD
Teteh A, Gbeassor M., Decuypere E., Tona k. 2016.. Int. J. Poult. Sci.. (15), 277-282
Urist M.R., Schjeide O. A., McLean F. C. 1958. J.Endocrinol. (63), 570-585.
Voemesse, K., Teteh, A., Nideou, D., N'nanlé, O., Tété- Benissan, A., Oke,O. E., Gbeassor, M., E. Decuypere, E., Tona,K., 2019. Eur. Poult. Sci., (83), 1612-9199
Zade V., Dabhadkar, D. 2013. Am. J. Adv. Drug Deliv.(3), 223-23

UNE DOSE OPTIMALE D'ACIDE BUTYRIQUE AMELIORE LES PERFORMANCES DE CROISSANCE DES POULETS DE CHAIR

Lever Yann, Le Roux Jean-Francois, Duval Louise

GLOBAL NUTRITION INTERNATIONAL - 5 rue des compagnons d'Emmaüs - 35301 FOUGERES
yann@globalnutrition.com

RÉSUMÉ
L'acide butyrique est un acide gras à chaine courte reconnu pour ses multiples effets sur la santé intestinale et les performances de croissance des monogastriques.
Les objectifs de cette étude sont d'évaluer l'efficacité de l'acide butyrique selon les doses, les sources (butyrate de calcium, butyrate de sodium, butyrate estérifié) et les technologies de protection (non protégé, protégé avec de la matière grasse, estérifié) utilisées sur les performances de croissance des poulets de chair. Une méta-analyse est réalisée à partir de 24 publications, 39 essais sont identifiés et codés. L'efficacité de l'acide butyrique est évaluée sur la croissance, l'ingestion et l'indice de consommation en utilisant un modèle de covariance et un risque α de 5% (ANCOVA).
La supplémentation en acide butyrique permet d'augmenter la croissance et de réduire l'indice de consommation. L'ingestion n'est pas impactée. Un effet de la dose est démontré. A la dose optimale de 300g d'acide butyrique par tonne d'aliment complet et en considérant toutes les périodes d'élevage, la croissance est augmentée de 3.98% et l'indice de consommation est réduit de 3% par rapport aux témoins. Aucune différence significative n'est observée entre les différentes sources.
L'intérêt zootechnique d'une supplémentation en acide butyrique est confirmé et une dose d'utilisation optimale de 300g d'acide butyrique par tonne d'aliment complet est déterminée. Les sources et les technologies de protection semblent également moduler l'efficacité de l'acide butyrique, cependant, leurs effets demeurent incertains et doivent être approfondis.

ABSTRACT
An optimal dosage of butyric acid improves broiler growth performance
Butyric acid (BA) is a short-chain fatty acid recognized for its multitudes of effects on the gut of monogastric. Through a meta-analysis method, the effect of the doses, the sources, and the protection of butyric acid on broiler performance are evaluated.
A meta-analytical study is conducted on a database of 24 publications on the effect of butyrate on broiler growth performance. Based on selected publications, 39 experimentations are identified and coded. The Statistical analysis is conducted with a risk α 5% and the standard model use is a covariance model (ANCOVA).
The supplementation of butyric acid reduces significantly the feed conversion ratio (FCR) and increases the average daily growth (ADG) with no significant impact on the feed intake. A cubic effect of the dose is observed on the FCR and ADG. At the optimum dosage of 300g of butyric acid per ton of feed, the ADG increases by 3.98%, and the FCR reduces by 3%. No significant differences are observed between calcium butyrate, sodium butyrate, and esters. However, numerically, calcium butyrate presents a better ability to reduce the FCR and to increase the ADG. Butyrate protected with fat demonstrates a better FCR reduction and a higher ADG improvement in comparison to unprotected butyrate and esters.
This study allow us to conclude on the interest of the supplementation of butyric acid in the improvement of broiler growth performance. The evaluation of the source and the protection effect is still not fully elucidated. This study is composed of a too low number of experimentations conducted with unprotected butyrate and esterified butyrate. But, protection seems to plays an important role to enhance butyric acid efficiency. A complementary study might be necessary.

INTRODUCTION

L'acide butyrique (AB), ou butyrate sous sa forme dissociée, est un acide organique à chaîne courte reconnu pour ses multiples actions sur le tractus digestif des monogastriques (Elnesr et al., 2020). L'AB permet d'augmenter l'intégrité intestinale en stimulant la sécrétion de mucines et en modulant les jonctions serrées, ce qui a pour conséquence de réduire la perméabilité de la paroi intestinale (Barcelo et al., 2000; Zheng et al., 2017). L'AB régule également les phénomènes inflammatoires en réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires et en stimulant la production de cytokines anti-inflammatoires (Li et al., 2015; Leonel et al., 2012). L'AB module le microbiote intestinal (Onrust et al., 2020). Il stimule la sécrétion de peptides antimicrobiens (PAM) et réduit les pathogènes comme les *E.coli, Salmonelles et Clostridium perfringens* (Sunkara., 2011; Fernandez-Rubio et al., 2009; Song et al., 2017). Ainsi, à travers ces différentes actions protectrices et régulatrices, l'AB réduit les possibles stress, infections et pertes de nutriments.

Couplé à ces fonctions régulatrices et protectrices, l'AB stimule la production de sucs pancréatiques et les activités enzymatiques (Guilloteau et al., 2010; Li et al., 2015). L'AB augmente la longueur des villosités, et en conséquence, la surface d'absorption des nutriments (Panda et al., 2009; Czerwiński et al., 2012; Kaczmarek et al., 2016). Ces différents phénomènes participent à l'augmentation de la digestibilité et de l'absorption des nutriments.

Par le biais de ces différentes actions, l'AB joue un rôle dans la stimulation des performances des poulets de chair. Néanmoins, la littérature diverge sur l'évaluation de ces effets. Certains chercheurs ont démontré une augmentation de la croissance et du poids final (Panda et al., 2009). D'autres n'ont pas vu d'effets sur la croissance (Wu et al., 2016; Leeson et al., 2005).

Différents facteurs peuvent moduler les effets de l'AB sur les performances des poulets de chair : la supplémentation d'acide butyrique peut se faire sous forme de butyrate de calcium, butyrate de sodium ou d'esters; différentes doses peuvent être administrées; les sels peuvent également être protégés afin de viser une libération localisée dans l'intestin.

Cette étude a pour objectif d'évaluer les effets de l'acide butyrique sur les performances des poulets de chair.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Base de données

Une recherche de publications a été effectuée à l'aide des mots-clés suivants : acide butyrique, butyrique, butyrate, butyrate de calcium, butyrate de sodium, poulets de chair. 56 publications ont été identifiées. Une sélection a ensuite été réalisée. Chaque publication sélectionnée comportait au moins deux traitements dont un non supplémenté avec de l'acide butyrique. Les expérimentations devaient étudier les performances de croissance des poulets de chair. La dose d'acide butyrique devait être constante pendant toute la période de test. Au final, 24 publications ont été sélectionnées pour l'analyse.

1.2. Codage

A partir des publications sélectionnées, des expérimentations ont été identifiées et codées. Chaque expérimentation était composée d'au moins deux traitements avec une unique variation possible entre ces derniers, la dose d'acide butyrique. 39 expérimentations ont été utilisées pour l'analyse des effets sur les performances. Néanmoins, le nombre d'expérimentations pouvait varier en fonction des paramètres et des périodes de croissance étudiées. Les informations relatives à chaque essai comme la souche des poulets, la présence d'un stress, le programme alimentaire ou encore la durée d'élevage ont été collectées.

Les critères d'exclusions étaient les suivants : doses d'AB variables en fonction des périodes de croissance (dose différente en démarrage ou en croissance), absence de groupe témoin, manque d'information sur la source d'AB ou sur le dispositif expérimental. Pour l'évaluation de l'effet de la dose, les doses supérieures à 1200g d'AB par tonne d'aliment ont été exclues.

1.3. Paramètres mesurés et calculés

Les paramètres mesurés pour la performance étaient la croissance quotidienne en (g/j/poulet), la consommation moyenne d'aliment (g/j/poulet), l'indice de consommation. Ces paramètres ont été étudiés sur toute la période de test, en démarrage, en croissance et en finition.

Pour chaque paramètre Y, une variable calculée et nommée « ΔY » a été créée. Cette variable calculée correspondait à la variation du traitement supplémenté avec de l'acide butyrique par rapport au traitement témoin non supplémenté, c'est la variation relative au témoin. Elle était calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\Delta Y_{\text{CodeExpeX.X .X.Xtraitement1}} = (Y_{\text{CodeExpeX.X .X.Xtraitement1}} - Y_{\text{CodeExpeX.X .X.Xtémoin}}) / Y_{\text{CodeExpeX.X .X.Xtémoin}}$$

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Pour l'analyse de l'effet de l'AB sur les performances des poulets, le méta-dispositif était de 39 expérimentations et 12 918 poulets. La durée de test moyenne était de 39 jours. La période de démarrage se terminait en moyenne à 17 jours d'âge, la période de croissance à 35 jours et la période de finition à 39 jours. Le nombre d'expérimentations variait en fonction des périodes étudiées de 32 expérimentations

pour toute la période de croissance à 16 expérimentations pour la période de finition. L'acide butyrique est supplémenté de 40 à 4 000g/T d'aliment complet. Les sources utilisées sont le butyrate de sodium (20 expérimentations), le butyrate de calcium (12 expérimentations), les esters (6 expérimentations) et l'acide butyrique (1 expérimentation). 8 expérimentations utilisent du butyrate non protégé, 25 utilisent du butyrate protégé avec de la matière grasse, 6 utilisent des esters (l'estérification est considérée comme un type de protection).
Sur la période totale de test, la supplémentation en acide butyrique a réduit significativement l'indice de consommation de 1,70 à 1,69 (p-value <0,001) et augmenté la croissance de 2,15g/j (p-value <0,001) sans impacter significativement la consommation d'aliment (nexpe= 32). Sur la période de démarrage, l'indice de consommation tend à être réduit mais aucune différence statistiquement significative n'a été remarquée (p-value = 0,12 ; nexpe= 27). Pendant la période de croissance, l'indice de consommation a été réduit de 0,2 point et la croissance journalière augmentée de 2.8g/j/poulet (p-value = 0,0189 et 0,0141, respectivement). La consommation d'aliment n'a pas été impactée (nexpe= 27) . Sur la période de finition, seule la croissance tend à être améliorée. Elle a augmenté de 5,3g par jour (p-value = 0,0719 ; nexpe= 24).

Au-delà de 1 200g d'AB par tonne d'aliment, la répartition des doses n'est pas continue. De ce fait, l'évaluation de l'effet de la dose est faite sur une plage de dose comprise entre 40g et 1200g (nexpe= 28). Sur la période totale de test (0-39 jours), un effet de la dose est remarqué sur l'indice de consommation. De 40g à 300g d'acide butyrique, l'augmentation de la dose réduit l'IC jusqu'à -3%. De 300g à 850g, l'action sur l'IC diminue. Après 850g, l'effet tend à diminuer (figure 1). L'effet de la dose d'AB sur l'indice de consommation suit l'équation suivante de degré 3 :

$$\Delta IC = -2{,}452e\text{-}04 * X + 5{,}659e\text{-}07 * X^2 - 3{,}275e\text{-}10 * X^3$$

De 40g à 300g de supplémentation d'AB dans l'aliment, le GMQ est augmenté pour atteindre un maximum de +3,98%. Les doses comprises entre 300g et 850g augmentent le GMQ mais de manière moins importante. Au-delà de 850g, le GMQ est à nouveau augmenté. L'effet de la dose d'AB sur l'indice de consommation suit l'équation suivante (figure 2)

$$\Delta GMQ = 2.96e\text{-}04 * X - 6.51e\text{-}07 * X^2 + 3.58e\text{-}10 * X3$$

Pour chacun des critères d'intérêt, aucune différence significative entre l'efficacité du butyrate de calcium, du butyrate de sodium et des esters d'acide butyrique n'a été observée (nexpe= 28). Sur toute la période de test, les butyrates protégés avec de la matière grasse ont montré une réduction numérique plus importante de l'indice de consommation ainsi qu'une stimulation plus importante de la croissance en comparaison avec de butyrates non protégés ou d'esters (nexpe= 28). L'indice a été réduit de -3% avec les butyrates protégés, -1,3% pour les esters et -0,7% pour les butyrates non protégés (p-value <0,001). Concernant la croissance journalière, elle a respectivement été augmentée de 3,7%, 1,9% et 1,4% (p-value <0,001). Néanmoins, les groupes étaient déséquilibrés (20 essais avec des butyrates protégés, 4 essais avec des esters et 4 essais avec des butyrates non protégés), la conclusion statistique est nuançable.
D'après la méta-analyse, la supplémentation en acide butyrique permet de réduire l'IC tout en augmentant la croissance et sans impacter l'ingestion d'aliment sur la période totale de test et sur la période de croissance. Sur la période de finition, seule la croissance est stimulée. Durant la période de démarrage, aucun effet significatif n'est remarqué, cependant les effets de l'AB durant cette période pourrait stimuler le développement du tube digestif et expliquer l'amélioration des performances pendant la période de croissance et de finition. Une part de la littérature conclut sur une amélioration des performances alors qu'une autre part n'en observe pas (Panda et al., 2009; Dhara et al., 2019; Leeson et al., 2005). La variabilité de l'efficacité de l'acide butyrique est expliquée par le statut sanitaire des animaux, la présence de pathogènes ou la composition de l'aliment. La méta-analyse permet de prendre en compte toutes ces variations possibles et d'avoir une vue globale sur les effets de l'acide butyrique sur les performances.
Cette méta-analyse met également en avant d'autres facteurs de variation de l'efficacité de l'acide butyrique. La dose est un facteur déterminant de l'efficacité. Certains chercheurs ont testé différentes doses mais n'ont remarqué aucun effet (Wu et al., 2018). Généralement, cette absence d'effets est dû à une plage de doses trop faibles ou l'utilisation d'un butyrate non protégé avec de la matière grasse. D'autres chercheurs ont quant à eux démontré un effet linéaire entre 40 et 250g/tonne (Levy et al., 2015). Les résultats sont en accord avec les observations de la littérature. Cette étude permet néanmoins de quantifier plus précisément l'effet de la dose sur une plage de dose plus large que la plupart des autres publications (Imran et al., 2018). L'effet maximal sur les performances se situe à environ 300g/tonne. Au-delà, les performances ne sont plus autant augmentées. Les doses supérieures à 850g/tonne semble également avoir un effet positif mais le nombre d'expérimentations est trop faible pour conclure à ce niveau de dosage. Un effet de la dose est également remarqué sur certains modes d'actions du butyrate et peut expliquer la modulation des performances des poulets: sécrétions du mucus (Barcelo et al., 2000), jonctions serrées (Peng et al. ,2007), développement des villosités (Sikandar et al., 2017).

La source d'acide butyrique ne semble pas impacter les performances. Néanmoins, le nombre d'expérimentations avec des esters est faible et ne permet pas de conclure sur l'efficacité de cette source. L'efficacité des butyrates protégés a été démontré mais sa comparaison statistique avec celles des butyrates non protégés et estérifiés est peu robuste car le méta-dispositif comporte trop peu de modalité avec du butyrate non protégé ou estérifié. Cette étude démontre néanmoins que les butyrates protégés avec de la matière grasse sont efficaces.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en avant l'intérêt de la supplémentation d'acide butyrique sur les performances des poulets de chair. La dose peut moduler son efficacité. L'évaluation de l'effet de la source demeure incomplète tout comme celle de l'effet de la protection. Une étude complémentaire plus approfondie sera nécessaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Barcelo A., 2000. Gut 46 (2): 218□24.
Czerwiński J., 2012. Archives of Animal Nutrition 66 (2): 102□16.
Dhara A., 2019. Veterinary Sciences, 10.
Elnesr S.S., 2020. Annals of Animal Science 20 (1): 29□41.
Fernandez-Rubio C., 2009. Poultry Science 88 (5): 943□48.
Guilloteau P., 2010. Journal of Dairy Science 93 (12): 5842□50.
Imran M., 2018. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 69 (3): 1109□16.
Kaczmarek S., 2016. Poultry science 95 (janvier).
Leeson S., 2005. Poultry Science 84 (9): 1418□22.
Leonel A.J., 2012. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 15 (5): 474□79.
Levy A.W., 2015. Poultry Science 94 (8): 1864□70.
Li J., Hou Y., 2015. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 28 (12): 1784□93.
Onrust L., Baeyen S., 2020. Veterinary Research 51 (1): 56.
Panda A.K., 2009. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 22 (7): 1026□31.
Peng L., 2007. Pediatric Research 61 (1): 37□41.
Sikandar A., 2017. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 30 (5): 690□99.
Song B., 2017. Animal Feed Science and Technology 232 (octobre): 6□15.
Sunkara L.T. ; 2011. Thèse de doctorat.
Wu W., 2018. PLoS ONE 13 (5).
Wu Y., 2016. PLoS ONE 11 (4).
Zheng L., 2017. The Journal of Immunology 199 (8): 2976□84.

Figure 1. Effet de la dose d'acide butyrique sur l'indice de consommation sur toute la période de test

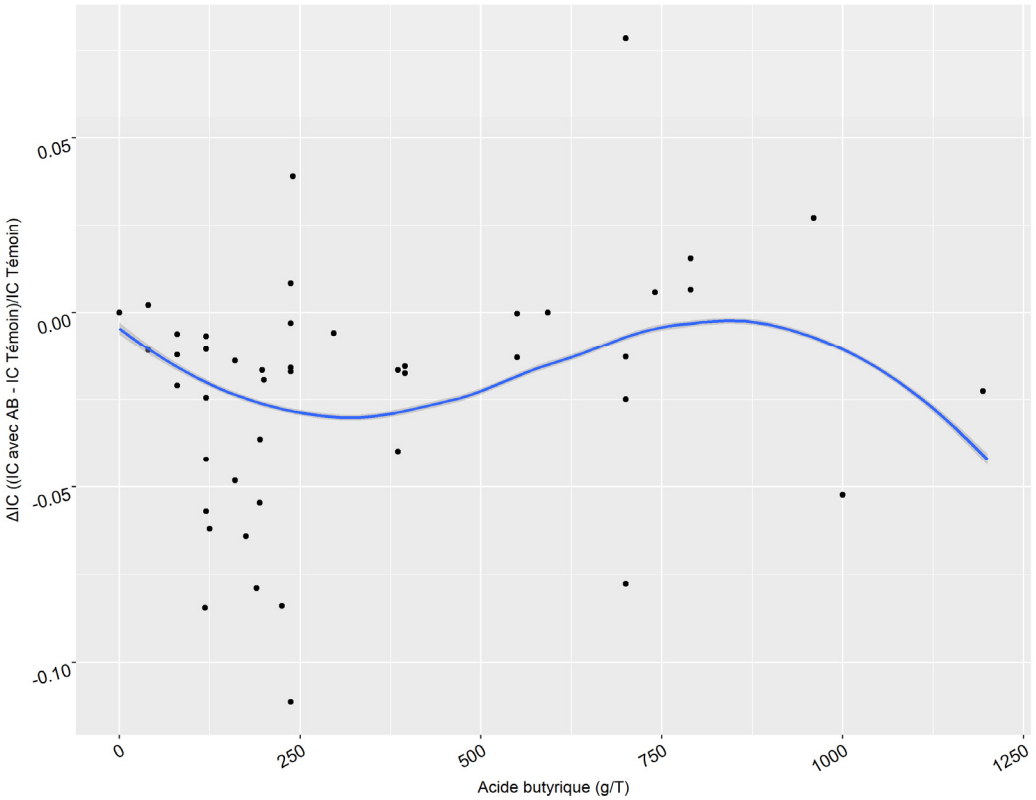
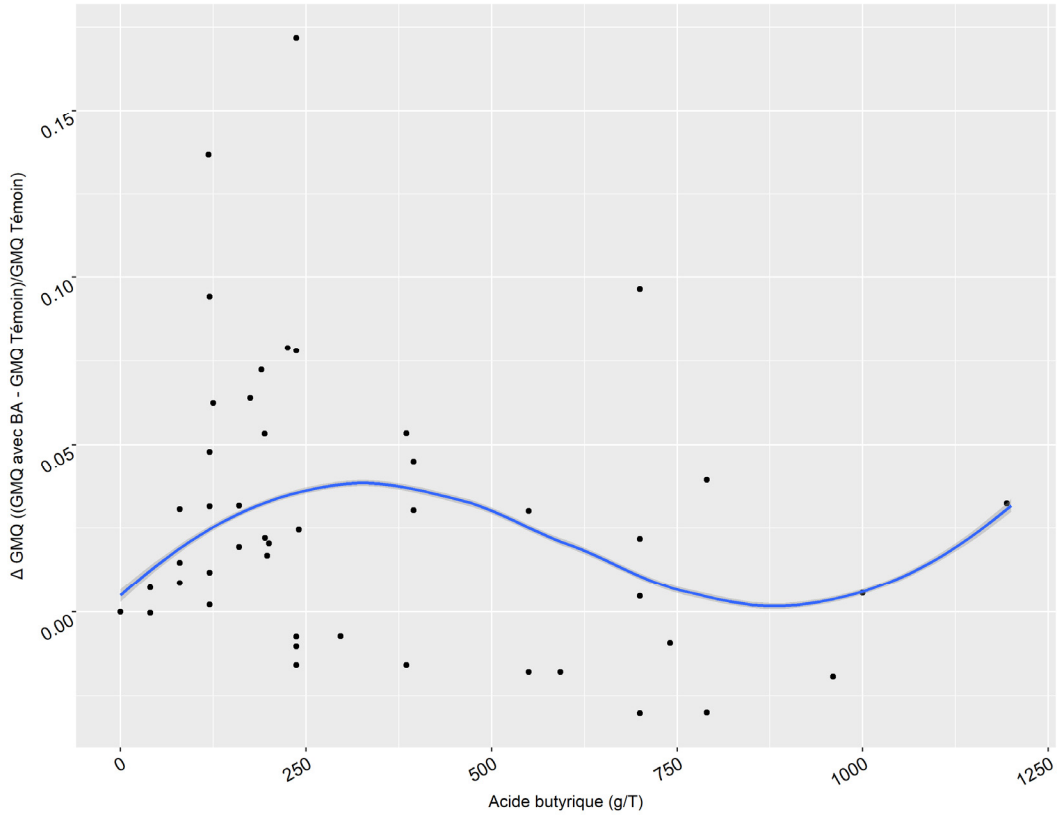


Figure 2 – Effet de la dose d'acide butyrique sur le GMQ sur toute la période de test



EFFET DE L'HUMATE SUR LES PERFORMANCES, L'HISTOPATHOLOGIE DES ORGANES ET LA QUALITE DE LA VIANDE DES POULETS DE CHAIR : ADDITIFS ALIMENTAIRES ET NUTRITION ANIMALE

Akaichi Asma[1], Jebali Abdallah[2], Benlarbi Maha[1], Mahjoub Tarek[3], Kaboudi Khaled[3], Ben Chaouacha-Chekir Rafika[1], Haouas Zohra[4], Boudhrioua Nourhene[1]

[1]LR17ES03 ISBST, Sidi Thabet PB-66 2020 ARIANA, [2]Société de la nutrition animale, Z.I. Borj Cedria 2055 BEN AROUS, [3]ENMV, Sidi Thabet- 2050 ARIANA, [4]Faculté de médecine de Monastir, Monastir 5000 MONASTIR

nourhene.boudhrioua@isbst.uma.tn; asmaakaichi@gmail.com

RÉSUMÉ

L'objectif de la présente étude est d'étudier l'effet de l'acide humique (AH), des acides organiques (AO) et de leur combinaison (AH-AO) sur les performances zootechniques, la qualité sensorielle de la viande et l'analyse histopathologique du foie et de la rate des poulets de chair. Un total de 2100 poussins de chair Arbor Acres âges d'un jour ont été divisés en 4 groupes avec 5 répétitions par groupe en utilisant 105 oiseaux par parquet. Les poulets de chair du groupe témoin ont été nourris durant 35 jours avec un régime de base (contrôle). Les trois autres groupes ont été nourris durant la même période avec un régime de base additionné de 0,1% AH et /ou 0,02% AO. Le poids corporel et la consommation alimentaire ont été enregistrés aux jours 14, 25 et 35. Au J 35, des échantillons de filets ont été collectées pour l'analyse sensorielle et la rate et le foie de 6 carcasses de chaque parquet ont été prélevés pour des analyses histologiques. L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel statistique SPSS pour Windows 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Les différences entre les groupes et le contrôle ont été testées par une analyse de variance (ANOVA) en utilisant le test de Tukey. Les performances de croissance n'ont pas été affectées par la supplémentation de l'AH. L'AH et AH-AO améliorent la couleur et la flaveur de la viande par rapport au contrôle ($P < 0.05$). Les poulets recevant l'AH et l'AH-AO ont développé moins de lésions hépatiques que ceux des autres lots et ont montré une structure normale de la rate avec extension de la pulpe blanche. La combinaison de l'AH et l'AO améliore la qualité sensorielle de la viande et préserve la structure histologique de la rate et du foie des poulets de chair mais n'a aucun effet sur les performances de croissance des poulets de chair. Ainsi, l'AH-AO peut être recommande comme additif en alimentation avicole pour améliorer la santé des poulets de chair et la qualité sensorielle de leur viande.

ABSTRACT

Effect of humate on performance, organ histopathology and meat quality of broiler chickens

The present investigation was aimed to evaluate the effect of humic acid (HA), organic acids (OA), and their combination (HA-OA) on the growth performance, the sensory quality of meat, and histopathological analysis of the liver and spleen of broiler chickens. A total of 2100,1-day old mix-sexed Arbor acres broiler chicks were randomly divided into 4 groups with five replicates per treatment using 105 birds per pen. Broiler chicks of the control group were fed for 35 days with a basal diet (C). The three other groups were fed during the same period with a basal diet supplemented with 0.1 % HA and/or 0.02 % OA. Body weight and feed intake were recorded on days 14, 25 and 35. On d 35, breast meat samples were collected for sensory analysis and spleen and liver of 6 carcasses per pen were taken for histology analysis. Statistical analysis of data was performed using SPSS software 20.0 (SPSS INC, Chicago, IL, USA). One-way ANOVA with Tukey's post-hoc test was used to compare between the four treatments. Growth performance was not affected by HA supplementation. HA and HA-AO improved meat color and flavor compared to the control group ($P <0.05$). Broiler chickens receiving HA and HA-OA developed less liver lesions than those of the other groups and showed normal spleen structure with the extension of the white pulp area. The combination of HA and OA improved sensory attributes of meat and preserved the histological structure of the spleen and liver of broiler chickens but had no effect on growth performance of broilers. Thus, HA-OA can be recommended as a combined feed additive to improve the health of broilers and the sensory quality of their meat.

INTRODUCTION

Les antibiotiques ont été largement utilisés pour améliorer la croissance des animaux (Dibner and Buttin, 2002). A cause de leurs effets néfastes sur la santé animale et humaine, l'Union Européenne a décidé d'interdire leur utilisation en tant que stimulateur de croissance depuis 2006 (Mutuş et al., 2006). L'acide humique (AH) est une substance organique qui existe dans le sol terrestre, les eaux naturelles et les sédiments résultant de la décomposition de résidus végétaux et naturels (de Melo et al., 2016). Cette molécule est largement utilisée pour remplacer les antibiotiques facteurs de croissance dans l'amélioration des performances et de la santé des oiseaux (Ceylan et al., 2003). De nombreux auteurs ont indiqué que l'effet bénéfique de l'AH sur les performances de croissance revient à leur capacité à modifier la physiologie intestinale des poulets de chair (Domínguez-Negrete et al., 2019 ; Taklimi et al., 2012). Son incorporation dans l'alimentation des volailles permet de stabiliser le microbiote intestinal et donc d'améliorer la digestibilité et l'assimilation des nutriments. L'acide humique a aussi un effet positif sur la santé des poulets de chair. En effet, il a été rapporté que cet additif alimentaire est capable à créer des couches protectrices sur la membrane muqueuse épithéliale du tube digestif contre la pénétration de substances toxiques et d'autres substances contaminées par des bactéries (Mudroňová et al., 2020 ; Taklimi et al., 2012). L'impact de l'acide humique sur les performances et la qualité sensorielle de la viande des poulets de chair a été étudié en conditions expérimentales (Hudák et al., 2021 ; Jaďuttová et al., 2019). Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a été effectuée en conditions commerciales. Par ailleurs, l'effet combiné de l'AH et des acides organiques (AO) sur la performance, l'histomor-phologie du foie et de la rate et la qualité sensorielle de la viande n'a été jamais étudié. Ainsi, cette étude a pour objectif de tester, en conditions commerciales, l'effet de l'AH seul ou combiné avec l'AO sur les performances de croissance, l'histomorphologie du foie et de la rate et la qualité sensorielle de la viande des poulets de chair.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et Aliments

Notre essai a été effectué dans une station d'élevage de la Société de Nutrition Animale (SNA, Poulina Group Holding). 2100 poussins d'un jour Arbor Acres ont été pesés individuellement et distribués de façon aléatoire en quatre lots de 525 animaux. Chaque lot a été divisé en 5 répétitions homogènes de 105 poussins mixtes (50/50). Les poulets ont reçu quatre régimes alimentaires différents (fabriqués par SNA, Tunis) distribués sous forme de miettes pendant la phase de démarrage (de 0 à 14 jours) et sous forme de granulés pendant la phase de croissance (de 14 à 25 jours) et de finition (de 25 à 35 jours). Le premier lot (L1) a reçu une alimentation de base non supplémentée en AH et AO. Le deuxième lot (L2) a reçu une alimentation de base supplémentée avec 0.1% AH (soit 1 kg/T d'aliment ; Farmavet International, Salihli, Manisa Turquie). Le troisième lot (L3) a reçu une alimentation supplémentée avec 0.1% AH et 0.02% AO (un mélange d'acides fumarique, sorbique, DL-malique, citrique et de composés aromatisants ; Jefo, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada) et le quatrième lot (L4) a reçu une alimentation supplémentée avec 0.02% AO. Les ingrédients de l'alimentation de base sont présentés dans le tableau 1.

1.2. Mesures expérimentales et analyses statistiques

Les poids vifs moyens et les consommations d'aliments ont été mesurés globalement par parquet aux jours 14, 25 et 35. L'indice de consommation a été calculé par parquet en divisant la consommation alimentaire totale (g) par le gain de poids (g) pendant une période donnée. La mortalité a été enregistrée quotidiennement. Au J 35, tous les poulets ont été transportés vers l'abattoir pour l'abattage. Pour chaque lot, un échantillon de filet a été collecté et conservé à 4°C ± 2°C pendant 24 h pour l'analyse sensorielle. La rate et le foie ont été collectés sur 6 carcasses de chaque parquet et conservés dans le formol à 10% pour l'analyse histologique. L'analyse sensorielle de la viande a été effectuée en faisant appel à 12 dégustateurs préalablement entraînés sur la dégustation de la viande cuite au four à 200°C pendant 1 h (Sampaio et al., 2012). Elle a été effectuée selon le protocole de Semjon et al. (2020). Les quatre caractéristiques évaluées étaient la tendreté, la jutosité, la couleur, et la flaveur. L'analyse histopa-thologique du foie et de la rate a été effectuée selon le protocole de Abdul Basit et al. (2020).
Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS 20.0 (SPSS INC, Chicago, IL, USA). Une ANOVA à un facteur a été réalisée et le test Tukey a été effectué pour une comparaison post-hoc afin de détecter les différences entre les traitements diététiques. Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative dans tous les tests.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Comme le montre le tableau 2, il n'y a pas de différence significative entre les poids, la consommation alimentaire, l'indice de consommation et la mortalité des poulets à 35 jours entre les quatre

groupes. La supplémentation de 0.1% de l'AH seul ou combiné avec l'AO n'affecte pas les performances zootechniques et la mortalité des poulets de chair.

Les caractéristiques sensorielles de la viande jouent un rôle important dans la perception des consommateurs (Hudák et al., 2021). L'incorporation de l'AH seul (L2) ou combiné avec l'AO (L3) dans l'alimentation des poulets de chair a amélioré significativement ($P < 0.05$) la couleur et la flaveur des filets par rapport au groupe témoin (L1) (Figure 1). Nos résultats sont en accord avec les résultats de Semjon et al. (2020) qui stipulent que 1% d'acide humique dans l'aliment améliore d'une manière significative la flaveur des filets des poulets de chair. Par ailleurs, la présente étude montre que le score le plus élevé d'appréciation sensorielle globale a été attribué par les dégustateurs à la viande des poulets qui ont reçu de l'AH seul (L2) ou combiné avec de l'AO (L3). Par contre, Hudák et al. (2021) ont rapporté que l'ajout de 0,7% d'acide humique associé avec l'acide formique dans l'alimentation des poulets de chair n'affecte pas l'acceptabilité globale des filets des poulets de chair. L'amélioration des caractéristiques organoleptiques peut être expliquée par une perte d'eau plus faible pendant la cuisson, offrant ainsi une meilleure jutosité et un meilleur goût de la viande évaluée (Semjon et al., 2020).

Le foie est un organe très important pour l'organisme, il est le centre de nombreuses activités digestives, métaboliques ou encore d'excrétions, toutes liées à la santé et la productivité des animaux (Nie, 2015). L'observation microscopique des coupes histologiques hépatiques des poulets ayant reçu de l'AH seul (L2) ou combiné avec l'AO (L3) révèle la présence d'une stéatose moins fréquente (Figure 2.1 c, d, e, f) et une infiltration lymphocytaire moins intense (Figure 2.2 c, d, e, f) que chez les autres groupes. Cet impact positif sur l'histomorphologie des foies a été rapporté par Van Rensburg et al. (2006) qui ont signalé que la supplémentation alimentaire en oxihumate améliorait les scores des lésions hépatiques et protégeait le foie contre les dommages induit par l'aflatoxine. Lotosh (1991) a signalé que l'humate joue un rôle dans la fonction hépatique et la protège légèrement contre les maladies et/ou les troubles métaboliques.

La rate est un organe immunitaire secondaire qui joue un rôle important dans la réactivité immunitaire antibactérienne et antivirale (Zhang et al., 2017). L'observation microscopique des rates des poulets ayant reçu de l'AH (L2) ou de l'AH-AO (L3) révèle une structure normale avec l'extension de la zone pulpe blanche sur l'ensemble des tissus spléniques et la présence d'un follicule lymphatique bien développé (Figure 4 c-d-e-f). Cette extension peut revenir à l'implication de cet additif dans l'amélioration de l'immunité du poulet. En effet, dans une étude impliquant des rats, il a été rapporté que l'étendue de la gaine lymphoïde périartériolaire (PALS) et de la zone marginale observée dans le groupe supplémenté en AH est causée par la prolifération accrue des lymphoblastes, ce qui signifie que l'AH a un fort effet immunostimulant humoral (Vucskits et al., 2010). Disetlhe et al. (2019) ont indiqué que l'augmentation du poids de la rate pourrait être attribuée en grande partie à l'effet trophique de l'AH dans la stimulation de la prolifération des cellules et des tissus normaux, améliorant ainsi le renouvellement et le maintien des tissus sains.

CONCLUSION

La supplémentation de l'alimentation des poulets de chair en AH et en AH-AO n'améliore pas de manière significative les performances zootechniques. Cependant, elle améliore la qualité sensorielle de la viande des poulets de chair et peut protéger les structures histologiques du foie et de la rate.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdul Basit M., Abdul Kadir A., et al, 2020. Animals., (7),1209.
Ceylan N., ÇİFTÇİ İ., İLHANZ, 2003. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences., (3), 727-733.
de Melo B.A.G., Motta F.L., Santana M.H.A, 2016. Materials Science and Engineering: C., (62), 967-974.
Dibner J., Buttin P, 2002. Journal of Applied Poultry Research., (4), 453-463.
Disetlhe A.R.P., Marume U., Mlambo V., Hugo A, 2019. Asian Australas J Anim Sci., (5), 711-720.
Domínguez-Negrete A., Gómez-Rosales S., et al, 2019. Animals., (12), 1101.
Lotosh T.D, 1991. Nauchnye Doki Vyss Shkoly Biol. Nauki., 10, 99-103.
Mudroňová D., Karaffová V., et al, 2020. Food and Agricultural Immunology., 1(1), 137-149.
Hudák M., Semjon B., et al, 2021. Animals, (4), 1087.
Jaďuttová I., Marcinčáková D., et al, 2019. Acta veterinaria Brno, 88(3), 307-313.
Mutuş R., Kocabağli N., et al, 2006. Poultry science., (9), 1621-1625.
Nie C., Zhang W., Wang Y., 2015. J Zhejiang Univ Sci B., (6), 447-455.
Sampaio G.R., Saldanha T., Soares R.A.M., Torres E.A.F.S, 2012. Food chemistry., 135(3), 1383-1390.
Semjon B., Marcinčáková D., et al, 2020. Poultry science., (3), 1750-1760.
Taklimi S., Ghahri H., Isakan M.A, 2012. Agricultural Sciences., (5), 663-668.
Van Rensburg C.J., Van Rensburg C.E.J., et al, 2006. Poultry science., (9), 1576-1583.
Vucskits A.V., Hulla´r I., et al, 2010. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition., (6), 721-728.
Zhang Q., Waqas Y., et al, 2017. Oncotarget., (5),7405-7419.

Tableau 1. Composition et valeurs nutritionnelles de l'aliment de base suivant les phases d'élevage (en % de la formule)

Ingrédients (%)	Aliment de démarrage	Aliment de croissance	Aliment de finition
MAIS	44,900	41,260	41,242
T.SOJA EXPRESS	22,000	22,000	22,000
T.SOJA	14,700	11,200	3,970
BLE	10,000	15,000	20,000
GRAINS DE SOJA EXTRUDE	4,200	5,000	7,000
PHOS.BICALCIQUE	1,746	1,321	0,972
CARBONATE DE CALCIUM FARINE	1,020	0,682	0,562
DL-METHIONINE	0,316	0,320	0,303
L-LYSINE	0,194	0,176	0,240
L-THREONINE	0,049	0,041	0,070
SEL	0,253	0,248	0,248
HUILE DE PALME BRUTE		2,070	2,574
HUILE DE SOJA	0,200		
PREMIX OLIGO-VITAMINES	0,422	0,682	0,819
Energie métabolisable (Kcal)	2850	2950	3280
PB (%)	23	22	20
Phosphore disponible (%)	0,53	0,46	0,401
Calcium (%)	1,088	0,95	0,851
LYS digestible (%)	1,239	1,159	1,08
M+C digestible (%)	0,93	0,886	0,824
MET digestible (%)	0,614	0,58	0,54
THR digestible (%)	0,802	0,754	0,702

Tableau 2. Effet d'une supplémentation de l'aliment en acide humique (AH) et/ou acides organiques (AO) sur les performances de croissance des poulets de chair à 35 jours

Lots (n = 5)	L1	L2	L3	L4	ESM	Valeur de P
Poids vif, g	2424	2359	2426	2423	22	0,840
Consommation moyenne d'aliment, g	3690	3665	3694	3713	8	0,197
Indice de consommation, g	1,522	1,565	1,523	1,534	0,01	0,864
Mortalité	5,000	5.000	5.000	4.000	0,39	0,815

L1 = lot témoin non supplémenté ; L2 = lot supplémenté avec 0,1% AH ; Lot 3 = lot supplémenté avec 0,1% A et 0,02% AO ; Lot 4 = lot supplémenté avec 0,02% AO ; ESM = Erreur standard de la moyenne

Figure 1. Effet d'une supplémentation de l'aliment en acide humique (AH) et/ou acides organiques (AO) sur la qualité sensorielle des filets de poulets abattus à 35 jours (n = 12)

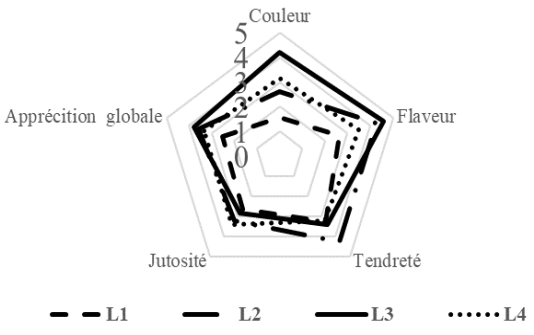
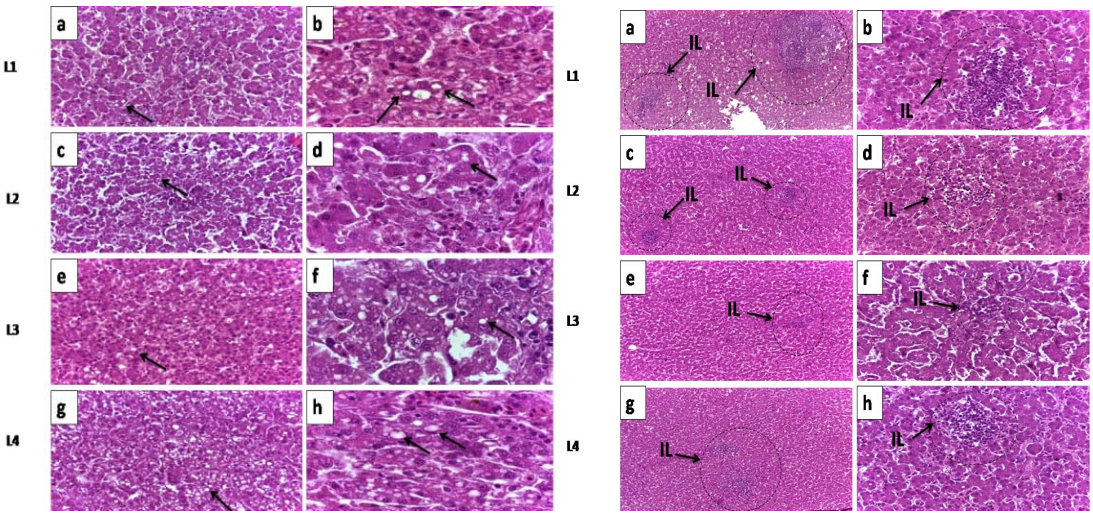


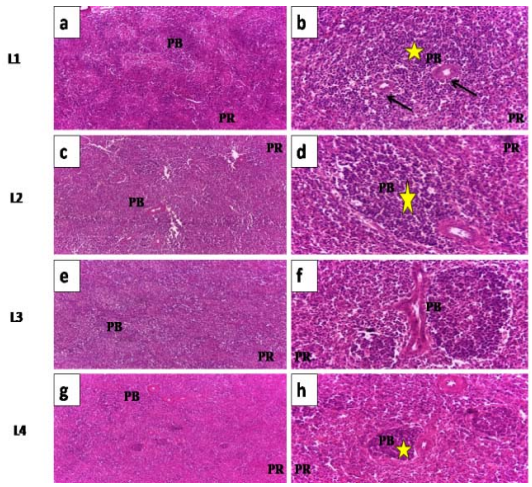
Figure 2. Observation des hépatocytes sur des coupes histologiques de foies de poulets témoins et traités par 0,1 % AH et/ou 0,02% AO



1 2

(1) : (a-b-g-h). Coupes de foie des groupes contrôle et AO, montrant des zones étendues et sévères de stéatose (flèches). (c-d-e-f) Foie des groupes nourris avec AH et AH-AO montrant des vacuolations hépatocytaires de taille variable non fréquentes (flèches). (2) : Infiltration lymphocytaire. (a-b-g-h) coupe du foie d'un oiseau nourri sans AH (groupes contrôle et AO) montrant une infiltration importante de lymphocytes dans le parenchyme hépatique (flèches). (c-d-e-f) l'infiltration lymphocytaire est moins importante chez les poulets traités par AH AH-AO (flèches). Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H & E). Microscopie optique, Grossissements 40 x (figures à droite), Grossissements 10 x (figures à gauche). IL = infiltration lymphocytaire.

Figure 3. Observation de coupes histologiques de rate de poulets témoins et traités par 0,1% AH et/ou 0,02% AO



Abréviations : PB, pulpe blanche ; PR, pulpe rouge. (a-b) La structure normale de la rate. Les pulpes rouges et blanches se distinguent nettement avec des trabécules et des centres germinatifs actifs (flèches) et des éléments lymphocytaires dispersés (étoile jaune). (c-d-e-f) rate des groupes nourris avec AH et AH-AO montrant une extension de la pulpe blanche sur tous les tissus spléniques avec un follicule lymphatique bien développé (étoiles jaunes). (g-h) rate du groupe nourri avec AO montrant une extension de la pulpe rouge sur tous les tissus spléniques avec une atrophie du follicule lymphatique (étoile jaune). Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H & E). Grossissements 40 x (figures à droite), Grossissements 10 x (figures à gauche)

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Communications orales

EVALUATION DES REPONSES IMMUNITAIRES SUITE A LA VACCINATION CONTRE *CAMPYLOBACTER* CHEZ DEUX SOUCHES AVIAIRES DIFFERENTES

Gloanec Noémie[1], Guyard Muriel[2], Quesne Ségolène[2], Véronique Béven[1], Typhaine Poezevara[2], Alassane Keita[3], Marianne Chemaly[2], Daniel Dory[1]

[1]Anses-Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Génétique Virale Biosécurité - ZI des croix - 22440 PLOUFRAGAN,
[2]Anses-Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Procins - ZI des croix - 22440 PLOUFRAGAN,
[3]Anses-Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Service élevage et expérimentation avicole - ZI des croix - 22440 PLOUFRAGAN
daniel.dory@anses.fr

RÉSUMÉ

La campylobactériose est la zoonose la plus fréquemment signalée en Europe et la volaille est le principal réservoir de *Campylobacter*. Aujourd'hui, aucun traitement permettant de réduire efficacement *Campylobacter* chez le poulet n'est disponible, et la vaccination est une stratégie à explorer. Dans une étude précédente, il a été démontré qu'un vaccin à base de flagelline contre *Campylobacter* entraînait des taux de protection différents chez deux souches de poulet provenant soit d'un élevage conventionnel (poulets de chair Ross), soit d'un élevage exempt d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS-poulets de ponte Leghorn) sans que les mécanismes immunitaires menant à la protection n'aient été recherchés. L'objectif de ce travail est de mieux comprendre les réponses immunitaires mises en jeu suite à cette vaccination chez ces deux souches de poulets. Pour chaque souche, un lot de poussins a été vacciné aux âges de 5 jours (vaccin à ADN) et 12 jours (vaccin protéique) et un second lot a été inoculé par le placebo correspondant. L'ensemble de ces animaux a ensuite été infecté par *C. jejuni* à l'âge de 19 jours. Aux âges de 19, 22, 28, 35 (5 poulets/lot) et 40 (15 poulets/lot) jours, la charge caecale de *Campylobacter*, les taux d'anticorps sériques et mucosaux ainsi que l'expression des gènes de cytokines et peptides antimicrobiens ont été évalués. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de tests de Mann-Whitney pour comparer les lots vaccinés et placebos. Une réduction significative de la charge caecale en *Campylobacter* (1,3 $\log_{10}$, $P<0.05$) a été observée chez les poulets EOPS vaccinés comparés aux placebos, mais pas chez les poulets de chair conventionnels. En complément à l'étude précédente, le taux d'anticorps intestinal reflété par les IgA biliaires, n'a augmenté de manière significative que chez les poulets EOPS vaccinés comparé aux placébos tout au long de l'infection par *Campylobacter*. Les taux d'anticorps sériques ont, quant à eux, augmenté de manière significative dans les deux lots de poulets vaccinés comparés aux placebos. L'ensemble des analyses d'expression des gènes de cytokines et peptides antimicrobiens n'a pas été entièrement réalisé à ce jour. Cependant, les premiers résultats suggèrent que les voies cellulaires ne semblent pas être stimulées par la vaccination mais par la colonisation de *Campylobacter*, notamment chez les poulets conventionnels. Ces résultats doivent néanmoins être consolidés et complétés par l'analyse des autres voies immunitaires. Ces nouvelles données pourraient permettre d'améliorer les futurs protocoles de vaccination anti-*Campylobacter* chez les poulets de chair.

ABSTRACT

Evaluation of immune responses to vaccination against *Campylobacter* in two different poultry breeds

Campylobacteriosis is the most frequently reported zoonosis in Europe and poultry is the main reservoir of *Campylobacter*. Today, no treatment is available to efficiently reduce *Campylobacter* in chickens, and vaccination is a strategy to be explored. In a previous study, it was shown that a flagellin-based vaccine against *Campylobacter* resulted in different rates of protection in two strains of chicken from either conventional (Ross broilers) or specific pathogen free (SPF-Leghorn laying chickens) breeding without investigating the immune mechanisms leading to protection. The objective of this work is to better understand the immune responses to this vaccination in these two strains of chickens. For each strain, a group of chicks was vaccinated at 5 days (DNA vaccine) and 12 days (protein vaccine) and a second group was inoculated with the corresponding placebo. All these animals were then infected with *C. jejuni* at 19 days of age. At 19, 22, 28, 35 (5 chickens/group) and 40 (15 chickens/group) days of age, the caecal *Campylobacter* load, serum and mucosal antibody levels and the expression of cytokine and antimicrobial peptide genes were assessed. Statistical analysis was performed using Mann-Whitney tests to compare vaccine and placebo groups. A significant reduction in caecal *Campylobacter* load (1.3 $\log_{10}$, $P<0.05$) was observed in vaccinated SPF chickens compared to placebos, but not in conventional broilers. In addition to the previous study, intestinal antibody levels, as reflected by bile IgA, were only significantly increased in vaccinated SPF chickens compared to placebos throughout the course of *Campylobacter* infection. Serum antibody levels were significantly increased in both groups of vaccinated chickens compared to placebos. The full range of cytokine and antimicrobial peptide gene expression analyses has not yet been completed. However, the first results suggest that the cellular pathways do not seem to be stimulated by vaccination but by *Campylobacter* colonisation, specifically in conventional chickens. However, these results need to be consolidated and completed by the analysis of other immune pathways. These new data could help to improve future anti-*Campylobacter* vaccination protocols in broilers.

INTRODUCTION

La campylobactériose est la zoonose la plus fréquemment signalée dans l'Union européenne avec 220 682 cas humains en 2019. Parmi les épidémies de *Campylobacter*, bactérie à Gram négatif, *Campylobacter jejuni* est l'espèce la plus fréquemment signalée. La majorité des infections est attribuée à la consommation et à la manipulation de produits à base de viande de volaille contaminés par *C. jejuni* (EFSA and ECDC, 2021). La campylobactériose étant un problème majeur pour la santé publique et l'économie, il est nécessaire de mettre en place de nouvelles mesures de surveillance et de contrôle dès la production primaire afin de réduire le risque pour le consommateur. Par exemple, une réduction de 2 $\log_{10}$ et 3 $\log_{10}$ CFU/g des concentrations de *Campylobacter* dans le cæcum des poulets de chair réduirait de 42 % et de 58 % le risque relatif de campylobactériose humaine dans l'Union européenne (EFSA, 2020). Par ailleurs, des études ont montré en réponse à la colonisation par *Campylobacter* (1) un rôle de l'immunité maternelle; (2) des réponses du système immunitaire inné avec l'implication de récepteurs de type Toll-like et des peptides antimicrobiens β-défensines; (3) des réponses immunitaires adaptatives avec la production d'anticorps ou encore de cytokines/chimiokines; enfin, (4) des modifications du microbiote intestinal (Sahin *et al.*, 2003; Shoaf-Sweeney *et al.*, 2008; de Zoete *et al.*, 2010; Reid *et al.*, 2016; Han *et al.*, 2017; Lacharme-Lora *et al.*, 2017; Connerton *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2018). La vaccination des volailles est un moyen de lutte envisagé pour réduire le portage de *Campylobacter* chez le poulet (Nothaft *et al.*, 2016; Meunier *et al.*, 2017; Meunier *et al.*, 2018; Cui *et al.*, 2020; Vohra *et al.*, 2020). Cependant, aucun vaccin efficace n'est disponible à ce jour sur le marché malgré le nombre important de travaux effectués. Dans une étude précédente de notre équipe (Meunier *et al.*, 2018), une stratégie vaccinale permettant facilement de screener différents antigènes vaccinaux contre *Campylobacter* (primo vaccination à ADN et rappel protéique) a été mise au point dans un premier temps avec la flagelline, connue à ce moment-là comme étant immunogénique (Cawthraw *et al.*, 1994) et identifiée comme étant un antigène vaccinal putatif par vaccinologie inverse (Meunier *et al.*, 2016). Au cours de cette étude il a été démontré que ce vaccin entraînait des taux de protection différents chez deux souches de poulet provenant soit d'un élevage conventionnel, soit d'un élevage exempt d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS). Il s'agissait d'une étude d'évaluation du pouvoir protecteur de ce vaccin n'incluant pas une analyse approfondie du mécanisme immunitaire aboutissant à ces différences de protection. L'objectif du présent travail est de mieux comprendre les réponses immunitaires mises en jeu suite à cette vaccination afin d'identifier des pistes d'amélioration de la vaccination anti-*Campylobacter* chez les poulets de chair. En plus de la protection vis-à-vis de la colonisation et du suivi de la production d'anticorps spécifiques sériques IgY, un suivi de la production des anticorps mucosaux évalués dans la bile (IgA) ainsi que l'expression des gènes de cytokines et peptides antimicrobiens dans le caecum ont été étudiés en cinétique sur 40 jours.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Culture bactérienne

La souche *C. jejuni* C97Anses640, isolée d'un produit de volaille et appartenant au complexe ST-45, a été utilisée pour le challenge oral *in vivo*. Les souches ont été cultivées dans des conditions microaérophiles (85 % N2, 10 % CO_2 et 5 % O_2) à 41,5˚C sur un milieu de gélose différentielle au charbon de *Campylobacter* (mCCDA) (Thermo Fisher Diagnostics, Dardilly, France) pendant 48 h ou dans un bouillon Brucella (Becton dickinson, Le Pont de Claix, France) pendant 24 h.

1.2. Préparation du vaccin aviaire

La production des vaccins à ADN et protéique de la flagelline a été réalisée selon les travaux précédents (Meunier *et al.*, 2018).

1.3. Animaux et design expérimental

Toutes les procédures expérimentales ont été effectuées conformément aux directives nationales françaises sur le soin et l'utilisation des animaux à des fins de recherche, approuvées par le ComEth Anses/ENVA/UPEC et autorisées par le ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation (référencé sous le numéro APAFIS#24442-2020022816285714 v2). Cette étude a été réalisée sur 70 poulets de ponte Leghorn EOPS et 70 poulets de chair Ross 308 conventionnels. Au jour de l'éclosion (jour 1), les animaux ont été répartis dans 2 groupes pour chaque souche de poulets (soit 35 animaux/groupe) ; un groupe vacciné et un groupe placebo (adjuvant seul). Ils ont été élevés sur litière à base de copeaux de bois et ont été nourris jusqu'à l'âge de 21 jours avec un aliment de démarrage puis jusqu'à l'âge de 40 jours avec un aliment de croissance/finition. Les poulets ont reçu une première injection par la voie intramusculaire au jour 5 (à un moment où le taux en anticorps anti-*Campylobacter* d'origine maternel est diminué chez les poulets de chair conventionnels) soit avec le vaccin à ADN anti-flagelline (150 µg de pcDNA3-flagelline et 25 µg de CpG ODN2007 non méthylé (TCGTCGTTGTCGTTGTCGTT, avec un squelette phosphorothioate) (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) utilisé comme adjuvant) ou le placebo correspondant. Afin de donner du temps au système immunitaire de développer sa réponse contre *Campylobacter* (Meunier *et al.*, 2018), un rappel a été réalisé au jour 12 soit avec le vaccin protéique anti-flagelline (100 µg de protéine de flagelline recombinante émulsifiée dans du MONTANIDE^{TM} ISA71 (30/70, p/p) (Seppic, La Garenne-Colombes, France)) ou le placebo correspondant. Les poulets ont été challengés par voie orale au jour 19 par 10^5 CFU de la souche C97Anses640 de *C. jejuni*. Les prélèvements de sang, de bile et de caeca ont été réalisés aux jours 19, 22, 28, 35 et 40.

1.4. Dénombrement de *Campylobacter*

Des échantillons de cæca ont été homogénéisés et dilués en série au 1:10ème jusqu'à la dilution 10^{-6} dans un bouillon tryptone-sel (Biomerieux, Craponne, France). Les dilutions ont été placées sur mCCDA en utilisant un ensemenceur automatique, l'easySpiral (Interscience, Saint-Nom-la-Bretèche, France). Après 48 heures d'incubation dans des conditions microaérophiles (85% N_2, 10% CO_2 et 5% O_2) à 41,5°C, les colonies caractéristiques de *Campylobacter* ont été dénombrées.

1.5. Analyses de la production d'anticorps

Le niveau d'anticorps contre la protéine flagelline dans le sérum et la bile a été mesurée par méthode ELISA en adaptant la méthode de (Meunier *et al.*, 2018) selon les modifications suivantes. Les plaques contenant 2 µg/mL de protéine flagelline par puits ont été successivement incubées avec des dilutions de 1:4800 de sérums ou de 1:100 de bile testés, puis avec des anticorps de chèvre anti-IgY de poulet-HRP (peroxydase de raifort) dilués au 1:35000 (Abcam, Paris, France) ou de chèvre anti-IgA de poulet-HRP dilués au 1:5000. Pour chaque échantillon, les mesures ont été réalisées en duplicat et chaque plaque a été validée par un contrôle interne.

1.6. Analyses de l'expression des gènes

Extraction d'ARNs

L'ARNm total des échantillons de caeca conservés dans le RNAlater a été extrait en utilisant le kit Agencourt® RNAdvance™ Tissue (Beckman coulter, Brea, CA, USA) selon les recommandations du fabricant puis traité avec le kit Turbo DNA-free™ (Invitrogen, Villebon sur Yvette, France) et quantifié par fluorimétrie à l'aide du kit Qubit RNA high sensitivity (HS) Assay au fluorimètre Qubit 2.0 (Life Technologies, Saint-Aubin, France).

Rétrotranscription des ARNs

Les ADNc ont été obtenus à partir de 320 ng d'ARN total en utilisant le kit High capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, Villebon sur Yvette, France) selon les recommandations du fabricant.

qPCR

L'expression relative des gènes de cytokines/chimiokines et peptides antimicrobiens suivants déjà testés en présence de *Campylobacter* (Reid *et al.*, 2016; Connerton *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2018) et reflétant l'activation de différentes voies immunitaires innées et spécifiques ont été déterminés par qPCR en utilisant le système PCR en temps réel 7500 (Applied Biosystems, Villebon sur Yvette, France) ; Interferon (IFN)-γ, Interleukine (IL)-1β (Nang *et al.*, 2011), IL-4 (Cox *et al.*, 2010), chimiokine motif C-X-C ligand 1 (CXCLi1), CXCLi2 (Rasoli *et al.*, 2015), IL-17A (Reid *et al.*, 2016), bêta-défensine aviaire (AvBD)10 et AvBD12 (Su *et al.*, 2017) et IL-10 où les amorces ont été conçues sur Primer Express® (Applied Biosystems, Villebon sur Yvette, France) (F : CGCTGTCACCGCTTCTTCA, R : CGAACGTCTCCTTGATCTGCTT). La réaction qPCR a été réalisée à partir de 4 ng d'ADNc en duplicat en utilisant le Master mix SYBRGreen (Applied Biosystems, Villebon sur Yvette, France) suivant 35 cycles d'amplification (95 °C/15 s, 60 °C/1 min). La quantité relative d'expression des gènes cibles a été déterminée par la méthode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak and Schmittgen, 2001) avec comme gène de référence la bêta-actine (Heidari *et al.*, 2016). L'efficacité de la PCR était comprise entre 90 et 105 %. Les tests statistiques ont été réalisés en utilisant des duplicats des données $2^{-\Delta Ct}$ pour chaque gène dans les groupes vaccinés et placebos (Connerton *et al.*, 2018).

1.7. Analyses statistiques

Pour chaque souche de poulet, les groupes vaccinés et placebos ont été comparés. Les données respectant les conditions de validités associées aux tests paramétriques ont été analysées par le test-t de student ; sinon par le test non paramétrique de Wilcoxon avec le logiciel R.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Concernant la colonisation caecale par *Campylobacter*, chez les poulets EOPS, une réduction de la charge caecale en *Campylobacter* a été observée dans le groupe vacciné comparé au groupe placebo aux jours 28 et 40, en atteignant une réduction moyenne de 1,3 $\log_{10}$ (7,2 $\log_{10}$ contre 8,5 $\log_{10}$) malgré une forte variabilité interindividuelle dans le groupe vacciné (tableau 1). Cependant, lors de l'essai précédent, alors qu'une souche différente de *Campylobacter* isolée à partir d'un prélèvement humain (*C. jejuni* 81-176) avait été utilisée, une absence de colonisation en *Campylobacter* chez les poulets Leghorn EOPS avait été observée au jour 42 (Meunier *et al.*, 2018). Cette différence de résultat entre les deux études pourrait être due à la souche bactérienne utilisée. En effet, la souche humaine pourrait avoir un pouvoir colonisateur moindre chez le poulet de chair comparé à la souche de volaille utilisée dans cette étude. Par ailleurs, l'action de la réponse immunitaire contre la flagelline aurait pu être suffisante pour empêcher totalement la colonisation de la souche de *C. jejuni* 81-176. En revanche, tout comme au cours de l'essai précédent, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes des poulets conventionnels vaccinés et placebos : chaque groupe était colonisé à environ 8 $\log_{10}$ du jour 22 au jour 40 (tableau 2).

Concernant la production d'anticorps chez les poulets EOPS, le taux d'anticorps dans le sérum (IgY) et dans la bile (IgA) était plus important dans le groupe vacciné comparé au groupe placebo du jour 19 au jour 40 avec une augmentation dans le temps et une forte variabilité interindividuelle dans le groupe vacciné. La réponse mucosale traduite par la production d'IgA dans la bile (régulièrement utilisée pour caractériser ce type de réponse chez le poulet – par exemple Mortada *et al.*, (2021)) pourrait être impliquée dans la diminution de la charge caecale en *Campylobacter* (tableau 1). Chez les poulets conventionnels, dans le sérum, la production d'anticorps était plus importante dans le groupe vacciné que dans le groupe placebo du jour 22 au jour 40 alors que dans la bile, aucune différence significative n'a été observée entre ces deux groupes (tableau 2). Cette absence d'augmentation de la réponse mucosale chez les poulets conventionnels pourrait être due à l'interférence

des anticorps maternels qui a déjà était démontrée (Meunier *et al.*, 2018). En effet, les anticorps maternels spécifiques seraient susceptibles de reconnaitre puis de neutraliser l'action du vaccin à base de flagelline (Shoaf-Sweeney *et al.*, 2008).

L'étude de l'expression de 9 marqueurs de l'immunité (cytokines, chimiokines ou peptides antimicrobiens) a été réalisée pour mieux comprendre le type de réponse mise en place suite à la vaccination (tableaux 1 et 2). Concernant l'expression des gènes étudiés chez les poulets EOPS, seule l'IL-10 caractéristique de la voie Treg anti-inflammatoire était sur-exprimée au jour 28 alors que l'AvBD10, impliquée dans la réponse immunitaire innée, était sous-exprimée chez les poulets vaccinés au jour 40 (tableau 1). L'IL-10 permettrait de réguler une inflammation locale alors que la sous expression de l'AvBD10 pourrait être associée à une tolérance commensale chez le poulet (Hermans *et al*., 2012). Concernant les poulets conventionnels, seule une sur-expression de l'AvBD12 au jour 19 avant challenge par *Campylobacter* chez les vaccinés reflétant une réponse immunitaire innée a été observée (tableau 2). Au contraire, d'autres antigènes de *C. jejuni* (lipooligosaccharides, protéines de la membrane externe et ADN génomique) avaient démontré une induction de l'expression de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires et régulatrices (Taha-Abdelaziz *et al*., 2020). Chez les placebos, une sur-expression de cibles pro-inflammatoires telles que l'IL-17A, la CXCLi2, l'Il-1β (voie Th17), l'IFN-γ (voie Th1) et anti-inflammatoire telle que l'IL-10 (voie Treg) a été observée aux jours 19 et/ou 40 (tableau 2). Ces résultats ont déjà été reportés après challenge par *Campylobacter* chez des poulets de chairs conventionnels (Reid *et al.*, 2016; Connerton *et al.*, 2018).

CONCLUSION

Au cours de cette étude, la vaccination avec la flagelline (primo vaccination à ADN et rappel protéique) a permis de stimuler la voie mucosale et de diminuer la charge caecale en *Campylobacter* chez les poulets EOPS. Ces résultats suggèrent une possible implication de la voie mucosale dans la diminution de *Campylobacter*. Par conséquent, la vaccination par voie orale pourrait être envisageable afin de cibler plus spécifiquement l'immunisation mucosale. Les voies cellulaires semblent être stimulées par la colonisation de *Campylobacter* et non par la vaccination, notamment chez les poulets conventionnels jusqu'à atteindre un certain niveau de tolérance vis-à-vis de la colonisation par *Campylobacter*. L'analyse de la composition et de la structure du microbiote caecal qui est en cours permettra d'évaluer son influence suite à la vaccination contre *Campylobacter*. Malgré un effet partiel de la vaccination contre *Campylobacter* chez les poulets de chair, ces nouvelles données pourraient permettre d'améliorer les futurs protocoles de vaccination anti-*Campylobacter* chez les poulets de chair.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le personnel du SELEAC (Service d'Elevage et expérimentation avicole et cunicole) de l'Anses Ploufragan pour leur aide dans la mise en place et soins des animaux et le SEPPIC pour la fourniture gracieuse de l'adjuvant MONTANIDE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Cawthraw, S., Ayling, R., Nuijten, P., Wassenaar, T., and Newell, D.G., 1994. Avian Dis 38 (2), 341–349.
Connerton, P.L., Richards, P.J., Lafontaine, G.M., O'Kane, P.M., Ghaffar, N., Cummings, N.J., et al., 2018. Microbiome, 6 (1), 88.
Cox, C.M., Sumners, L.H., Kim, S., McElroy, A.P., Bedford, M.R., and Dalloul, R.A, 2010. Poult. Sci., 89 (12), 2597–2607.
Cui, Y., Guo, F., Guo, J., Cao, X., Wang, H., Yang, B., et al., 2020. Vaccines, 8 (4), 747.
de Zoete, M.R. de, Keestra, A.M., Roszczenko, P., and Putten, J.P.M. van, 2010. Infect. Immun., 78 (3), 1229–1238.
EFSA and ECDC, 2021. EFSA J., 19 (2), e06406.
EFSA, 2020. EFSA J., 18 (4), e06090.
Garcia, J.S., Byrd, J.A., and Wong, E.A., 2018. Poult. Sci. 97 (10), 3671–3680.
Han, Z., Willer, T., Li, L., Pielsticker, C., Rychlik, I., Velge, P., et al., 2017. Infect. Immun., 85 (11), e00380-17.
Heidari, M., Wang, D., Fitzgerald, S.D., and Sun, S., 2016. Avian. Pathol., 45 (5), 582–592.
Hermans, D., Pasmans, F., Heyndrickx, M., Immerseel, F.V., Martel, A., Deun, K.V., et al., 2012. Crit Rev Microbiol, 38 (1), 17–29.
Lacharme-Lora, L., Chaloner, G., Gilroy, R., Humphrey, S., Gibbs, K., Jopson, S., et al. (2017) Sci. Rep., 7, 1–10.
Livak, K.J., and Schmittgen, T.D., 2001. Methods, 25 (4), 402–408.
Meunier, M., Guyard-Nicodème, M., Hirchaud, E., Parra, A., Chemaly, M., and Dory, D., 2016. J Immunol Res., 2016, 5715790.
Meunier, M., Guyard-Nicodème, M., Vigouroux, E., Poezevara, T., Beven, V., Quesne, S., et al., 2017. PLoS one, 12 (11), e018872.
Meunier, M., Guyard-Nicodème, M., Vigouroux, E., Poezevara, T., Béven, V., Quesne, S., et al., 2018. Vaccine, 36 (16), 2119–2125.
Mortada, M., Cosby, D.E., Akerele, G., Ramadan, N., Oxford, J., Shanmugasundaram, R., et al., 2021.PLoS ONE., 16(3), e0247080.
Nang, N.T., Lee, J.S., Song, B.M., Kang, Y.M., Kim, H.S., and Seo, S.H., 2011. Vet. Res., 42, 64.
Nothaft, H., Davis, B., Lock, Y.Y., Perez-Munoz, M.E., Vinogradov, E., Walter, J., et al., 2016. Sci. Rep., 6, 26511.
Rasoli, M., Yeap, S.K., Tan, S.W., Roohani, K., Kristeen-Teo, Y.W., Alitheen, N.B., et al., 2015. BMC Vet. Res., 11, 75.
Reid, W.D.K., Close, A.J., Humphrey, S., Chaloner, G., Lacharme-Lora, L., Rothwell, L., et al., 2016. R. Soc. Open Sci., 3 (3), 150541.
Sahin, O., Luo, N., Huang, S., and Zhang, Q., 2003. Appl. Environ. Microbiol., 69 (9), 5372–5379.
Shoaf-Sweeney, K.D., Larson, C.L., Tang, X., and Konkel, M.E., 2008. Appl. Environ. Microbiol., 74 (22), 6867–6875.
Su, S., Dwyer, D.M., Miska, K.B., Fetterer, R.H., Jenkins, M.C., and Wong, E.A., 2017. Poult. Sci., 96 (7), 2421–2427.
Taha-Abdelaziz, K., Astill, J., Shojadoost, B., Borrelli, S., A Monteiro, M., and Sharif, S., 2020. Vet Microbiol., 246, 108732.
Vohra, P., Chintoan-Uta, C., Terra, V.S., Bremner, A., Cuccui, J., Wren, B.W., et al., 2020. Vaccines, 8(3), 520.

Tableau 1. Résumé des résultats entre les poulets Leghorn EOPS vaccinés et placebos.

Age (jours)	19	22	28	35	40
Colonisation caecale de *Campylobacter* (log_{10} UFC/mL)	NA	NS	P:8.86±0.26 ↘V:7.25±2.41	NS	P:8.46±0.81 ↘V:7.20±1.24
IgY sérique anti-flagelline (A_{490nm})	P:0.06±0.00 ↗V:0.14±0.11	P:0.06±0.00 ↗V:0.62±0.52	P:0.06±0.01 ↗V:0.80±0.56	P:0.09±0.05 ↗V:1.40±0.58	P:0.12±0.08 ↗V:1.63±0.54
IgA biliaires anti-flagelline (A_{490nm})	NS	P:0.45±0.13 ↗V:1.21±0.81	P:0.49±0.15 ↗V:1.40±0.72	P:0.56±0.06 ↗V:1.52±0.90	P:0.77±0.20 ↗V:1.30±0.35
Cytokines/ chimiokines et peptides antimicrobiens dans le caecum	NS	NS	↗ IL-10 V/P:2.09	NS	↘AvBD10 V/P:0.06

Les augmentations significatives (p-value <0,05) des productions d'anticorps (IgY et IgA) ainsi que les sur-expressions relatives des gènes de cytokines/chimiokines/peptides antimicrobiens dans le caecum des poulets vaccinés comparé aux placebos sont représentés par des flèches vers le haut (↗) ; les flèches vers le bas (↘) indiquent des diminutions significatives de la colonisation caecale de *Campylobacter* ou de sous expressions relatives des gènes. NS indique aucune différence significative entre les poulets vaccinés et placebos. NA indique qu'aucune analyse n'a été effectuée. Les données (moyenne±écart-type) sont indiquées pour les résultats significatifs de colonisation caecale de *Campylobacter* (log_{10} UFC/mL) et d'IgY et d'IgA anti-flagelline (A_{490nm}) entre les groupes vaccinés (V) et placebo (P). Les différences significatives d'expression relatives des gènes (V/P) entre les groupes vacciné et placebo sont également indiqués.

Tableau 2. Résumé des résultats entre les poulets chair conventionnels vaccinés et placebos.

Age (jours)	19	22	28	35	40
Colonisation caecale de *Campylobacter* (log_{10} UFC/mL)	NA	NS	NS	NS	NS
IgY sériques anti-flagelline (A_{490nm})	NS	P:0.05±0.00 ↗V:0.24±0.22	P:0.07±0.03 ↗V:0.53±0.32	P:0.15±0.13 ↗V:1.15±0.74	P:0.10±0.04 ↗V:1.37±0.74
IgA biliaires anti-flagelline (A_{490nm})	NS	NS	NS	NS	NS
Cytokines/ chimiokines et peptides antimicrobiens dans le caecum	↗AvBD12 V/P:6.19 ↘IL-17A V/P:0.03 ↘CXCLi2 V/P:0.15	NA	NA	NA	↘IFN-g V/P:0.30 ↘IL-17A V/P:0.38 ↘IL-1β V/P:0.27 ↘CXCLi2 V/P:0.26 ↘IL-10 V/P:0.47

Les augmentations significatives (p-value <0,05) des productions d'anticorps (IgY) ainsi que les sur-expressions relatives des gènes de cytokines/chimiokines/peptides antimicrobiens dans le caecum des poulets vaccinés comparé aux placebos sont représentés par des flèches vers le haut (↗) ; les flèches vers le bas (↘) indiquent des diminutions significatives de sous-expressions relatives des gènes. NS indique aucune différence significative entre les poulets vaccinés et placebos. NA indique qu'aucune analyse n'a été effectuée. Les données (moyenne±écart-type) sont indiquées pour les résultats significatifs de colonisation caecale de *Campylobacter* (log_{10} UFC/mL) et d'IgY et d'IgA anti-flagelline (A_{490nm}) entre les groupes vaccinés (V) et placebo (P). Les différences significatives d'expression relatives des gènes (V/P) entre les groupes vacciné et placebo sont également indiqués.

MISE EN PLACE ET SUIVI DE LA VACCINATION ANTICOCCIDIENNE EN ELEVAGE DE POULETTES FUTURES PONDEUSES

Djabella Djouhra[1], Répérant Jean-Michel[2], Bertin Joel[1]

[1] COOPERATIVE LE GOUESSANT, 1 rue de la Jeannaie, 22402 LAMBALLE,
[2]ANSES - 41 rue de Beaucemaine - 22440 PLOUFRAGAN

Joel.bertin @legouessant.fr

RÉSUMÉ

Pour les poulettes futures pondeuses, la vaccination précoce contre les coccidioses par des souches atténuées a fait ses preuves dans le contrôle des formes cliniques et sub-cliniques. Nous avons, pour cette production, validé plusieurs indicateurs de prise vaccinale et testé plusieurs méthodes d'application en élevage. Des audits de vaccination via l'eau de boisson ont été pratiqués dans 20 élevages de poulettes futures pondeuses. Pour 30 lots de poulettes vaccinées par nébulisation à l'arrivée soit sur les poussins soit sur l'aliment, nous avons suivi le comptage des oocystes dans les fientes (OPG) au cours des 5 premières semaines et avons fait réaliser en laboratoire un contrôle lésionnel sur 5 poulettes à 5 semaines (indice de Johnson et Reid). Le suivi clinique des lots a permis de s'assurer de la protection des poulettes contre les coccidioses tardives à *Eimeria necatrix* et *Eimeria brunetti*. Les audits réalisés pour l'administration par l'eau de boisson ont mis en évidence les difficultés pour distribuer avant 7 jours à chaque poussin, un vaccin certes résistant aux désinfectants usuels mais qui sédimente rapidement dans les pipettes ou les abreuvoirs. Le nombre d'oocystes par gramme à 7 jours est révélateur de la bonne application du vaccin sur les poussins et sur l'aliment. Les 2 méthodes d'application se sont montrées également efficaces. Le nombre d'oocystes par gramme à 21 jours est utilisé comme marqueur de la bonne réplication du vaccin. L'association avec l'examen lésionnel a permis de valider la bonne réplication des souches vaccinales appliquées par pulvérisation à 1 jour en élevage. Dans certains cas, des litières trop sèches ou une densification insuffisante des poussins ont retardé la réplication. Plus rarement, la pression des souches sauvages par insuffisance de décontamination a pu augmenter considérablement l'excrétion à 21 jours. En conclusion, ces travaux ont permis de valider plusieurs méthodes d'application des vaccins anticoccidiens en élevage de poulettes futures pondeuses. Les indicateurs utilisés vont permettre de valider les méthodes les mieux adaptées à chaque élevage et à chaque type de poussinière.

ABSTRACT

For chickens reared for laying, early vaccination against coccidiosis with attenuated strains has been proven effective to control clinical and subclinical forms. For this production, we have validated several indicators of vaccine uptake and tested several methods of application in breeding farm. Audits of drinking-water vaccination were performed in 20 breeding farms of future layer pullets. For 30 batches of pullets vaccinated by nebulization on arrival, either on chicks or on feed, we followed the count of oocysts in the droppings (OPG) during the first 5 weeks and had a lesion control performed in laboratory on 5 pullets, at 5 weeks (Johnson and Reid index). The clinical monitoring of the batches ensured that the pullets were protected against late coccidiosis caused by *Eimeria necatrix* and *Eimeria brunetti*.

he audits performed for the administration by drinking water highlighted the difficulties to distribute, to each chick, before 7 days, a vaccine certainly resistant to the usual disinfectants but which sediments quickly in water nipples or drinkers. The number of oocysts per gram (OPG) at 7 days is indicative of the correct application of the vaccine on chicks and on feed. Both application methods were equally effective. The number of oocysts per gram (OPG) at 21 days is used as a marker of good vaccine replication. The combination with lesion examination validated the good replication of the vaccine strains applied by spraying during the first day in breeding farm. In some cases, a too dry bedding or an insufficient densification of chicks delayed replication. Rarely, the pressure from wild strains due to insufficient decontamination may have considerably increased excretion at 21 days. In conclusion, this work validated several methods of application of anticoccidial vaccines in rearing of future laying pullets. The used indicators will allow us to validate the methods best suited to each breeding farm and each type of brooder.

INTRODUCTION

La coccidiose est une maladie du tractus digestif économiquement importante causée par des espèces du genre *Eimeria*. Plus de 60 milliards de poulets sont produits chaque année dans le monde et l'impact global de la coccidiose était estimé en 2016 à plus de 12 milliards d'euros par an (Blake et al., 2020).
Environ 80 % de ces pertes sont associées à la dégradation des performances, notamment la diminution du gain de poids et l'augmentation de la conversion alimentaire.
Les 20 % de perte restants sont liés au coût des mesures de prophylaxie et de traitement (Tensa et al., 2019).
Le contrôle de la maladie est assuré par divers moyens, comme les anticoccidiens chimiques, les ionophores et les vaccins. Plusieurs modes d'administration d'un vaccin anticoccidien sont utilisés, à savoir la vaccination par pulvérisation à grosses gouttelettes sur l'aliment, sur les poussins au couvoir ou à la ferme à l'âge d'un jour et l'administration du vaccin dans l'eau de boisson entre 4 et 9 jours d'âge.
L'étude a été réalisée au sein d'une organisation de production de poulettes futures pondeuses d'œufs de consommation, la vaccination anticoccidienne étant réalisée via l'eau de boisson pour la quasi-totalité des lots.

1. AUDIT VACCINATION ANTICOCCIDIENNE VIA L'EAU DE BOISSON

Les audits ont été réalisés le jour même de la vaccination (4 à 9 jours d'âge), sur 20 lots de production biologique de poulettes futures pondeuses d'œufs de consommation. Un questionnaire d'audit sur différents thèmes a été mis en place : l'âge des poulettes, le système d'abreuvement, le programme lumineux mis en place, toutes les étapes de vaccination. Il permet de déceler les points critiques de la vaccination par eau de boisson.

1.1 Constats des audits

1.1.1. Les principales erreurs de pratiques rencontrées

• Absence de purge du circuit d'eau : avec la présence d'eau résiduelle dans les lignes des pipettes, les premières poulettes reçoivent de l'eau claire à la place du vaccin.
• Non-respect du programme lumineux : la vaccination doit débuter de préférence au réveil des poulettes pour qu'elles consomment la solution vaccinale pendant les 2 heures post-préparation.
• Une durée d'assoiffement insuffisante conduisant à l'étalement de la vaccination dans le temps au-delà de la durée de sédimentation des vaccins anticoccidiens après distribution.

1.1.2. Certains problèmes matériels ont pu pénaliser la distribution du vaccin

• Quelques lots ont rencontré des problèmes de réglage des pompes doseuses. Ceci engendre une hétérogénéité de la vaccination (les poulettes ne reçoivent pas chacune la dose requise de vaccin).
• Le volume de la solution vaccinale est inférieur à la contenance globale des circuits d'eau (faible volume de dilution du vaccin : 1 dose dans 5 ml d'eau).
• La grande majorité des bâtiments d'élevage étudiés sont équipés d'un système d'abreuvement type « pipettes » moins approprié à ce type de vaccination : le risque que les oocystes soient piégés dans le biofilm intérieur des circuits est élevé tout comme le risque de sédimentation des oocystes au fond des circuits. La différence de densité entre les espèces d'*Eimeria* peut ainsi conduire à une immunisation partielle pour certaines espèces.

1.1.3. Mises en place de poussins d'âges différents dans le même bâtiment

• Des écarts de 4 à 5 jours ont été observés : lors de la distribution du vaccin, les poussins les plus âgés consomment des quantités d'eau et donc de vaccin plus élevées, l'âge de vaccination ne peut être optimal pour les deux lots.
La mise en place de l'immunité nécessite au minimum 3 cycles de réplication des souches vaccinales. Pour les souches sauvages, le pic naturel maximal des oocystes se produit généralement entre 3 et 5 semaines d'âge (Chapman et al., 2005). Il est donc nécessaire d'initier l'immunité avant cette période à risque, d'où l'intérêt de vacciner au premier jour d'âge. Ce dernier point nous a incité à valider une méthode d'application mieux adaptée : nous avons testé la pulvérisation à grosses gouttelettes sur les poulettes ou sur l'aliment.

2. MISE EN PRATIQUE DE LA METHODE DE PULVERISATION SUR LES POULETTES ET SUR L'ALIMENT

2.1. Matériel et méthodes

Cette étude est réalisée au sein de 30 lots d'élevages biologiques de poulettes futures pondeuses d'œufs de consommation, représentant un effectif de 180 000 poulettes de différentes souches.
En France, trois vaccins sont employés pour protéger les poulettes contre la coccidiose. Ils contiennent au minimum les cinq espèces d'*Eimeria*. La solution vaccinale est préparée selon les instructions des différents fabricants. Pour la pulvérisation sur l'aliment, un gel alimentaire répondant au cahier des charges de la production biologique a été testé.
Les vaccins sont appliqués à l'aide d'un matériel « Birchmeier » électrique avec une buse orange pour

obtenir des gouttelettes d'un diamètre moyen de 235 microns. La pression est réglée à 2 bars avec un débit de 0,97 litres/minutes.
Le choix d'un papier démarrage à dégradation lente est recommandé : il favorise la rétention en humidité et le contact des oocystes avec l'oxygène qui sont deux paramètres favorisant la sporulation.
Deux lignes de papier démarrage sont déposées de part et d'autre du bâtiment, tout le long des lignes de pipettes. Une quantité d'aliment consommé en 24 heures est distribuée en totalité sur le papier. Ce positionnement crée une densité artificielle dans les bâtiments qui démarrent sur toute la surface. Cette zone de vie restreinte facilite l'application sur les poussins et favorise le recyclage des oocystes vaccinaux.

Pour la vaccination sur les poulettes, la solution vaccinale était pulvérisée une demi-heure à une heure après la mise en place lorsque les poulettes étaient regroupées sur le papier. Sur l'aliment, la pulvérisation était effectuée dans l'heure qui précédait l'arrivée des poulettes.

Nous avons estimé la prise vaccinale par l'étude des paramètres suivants :

- Suivi d'excrétion d'oocytes par prélèvement des fientes pendant les cinq premières semaines (J7, J14, J21, J28 et J35 post vaccination).
- Suivi lésionnel réalisé en laboratoire sur 5 poulettes à 5 semaines d'âge avec les indices lésionnels de Johnson et Reid (1970).
- Suivi clinique réalisé au moment des prélèvements des fientes.
- Identification des espèces vaccinales pour quelques lots.

2.2. Résultats et discussion

2.2.1. Suivi d'excrétion d'oocystes

Pour une vaccination par pulvérisation à grosses gouttelettes sur les poulettes ou sur l'aliment, la cinétique d'excrétion des oocystes est similaire (figures 1 et 2), les courbes prennent une forme en cloche. On observe une montée progressive des OPG jusqu'au pic à l'âge de 3 semaines, c'est le résultat d'une bonne réplication des oocystes vaccinaux, puis une baisse de ce nombre d'oocystes consécutive à l'installation de l'immunité qui empêche la réplication des coccidies sauvages.

2-2-2- Suivi lésionnel

Nous avons constaté la présence de lésions modérées dues à *E. tenella*, *E. maxima* et *E. acervulina*, avec des scores lésionnels de l'ordre de 1 et 2 pour 24 des 30 lots examinés. Des lésions de cette sévérité n'affectent pas les performances des poulettes immunisées.

2.2.3. Suivi clinique

Sur la majorité des lots vaccinés, par pulvérisation sur l'aliment ou sur les poulettes au sol, aucun signe clinique attribuable à la coccidiose n'a été observé. Sur les six lots faisant exception, nous avons observé un début de prostration et de frilosité, des fientes caecales mousseuses avec des traces de sang et un mucus orangé sur les fientes intestinales. Nous avons pu investiguer ces différents cas avec absence d'immunité protectrice.
- dans un cas, le défaut de réplication des oocystes vaccinaux issus du premier cycle, mesurée par les OPG à J21 (figure 3) était la conséquence d'un lâcher trop précoce des poulettes sur l'ensemble de la surface du bâtiment juste après l'achèvement du premier cycle.

- pour l'autre cas, le passage d'une maladie immunodépressive avec atrophie des bourses de Fabricius (maladie de Gumboro ou anémie infectieuse) aurait interféré avec la prise vaccinale.

- dans le dernier cas, la pression importante des coccidies sauvages au démarrage confirmée par un nombre d'oocystes très élevé de l'ordre de 40 000 OPG à J7 (figure 4) a limité l'installation des coccidies vaccinales administrées à faible dose et par conséquent d'une immunité précoce.

2.2.4. Identification des espèces vaccinales

L'identification des espèces vaccinales par microscopie a permis d'observer à J16 et à J21 (tableau1) les trois types morphologiques pour les deux applications, ce qui correspond à une bonne prise vaccinale avec réplication de toutes les espèces d'*Eimeria* présentes dans le vaccin.

CONCLUSION

Cette étude a permis de valider la technique de vaccination par pulvérisation, sur l'aliment et sur les poulettes, pour pallier les difficultés rencontrées lors de la vaccination dans l'eau de boisson.
Elle a également souligné l'importance de la densité au démarrage et l'usage de papiers de démarrage à dégradation lente qui permettent de créer les conditions optimales pour la maturation des oocystes vaccinaux et le déroulement précoce des cycles parasitaires.
Elle a permis également de valider, quel que soit le mode de vaccination, un moyen précoce pour contrôler la bonne réplication vaccinale avec le comptage des oocystes dans les fientes au 21ème jour (OPG J21).
Enfin, ces travaux ont été déterminants pour choisir la méthode la mieux adaptée à chaque élevage en fonction de l'équipement du poulailler, du matériel d'application disponible et des pratiques de chaque éleveur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Blake D.P., Knox J., Dehaeck B., Huntington B., Rathinam T., Ravipati V., Ayoade S., Gilbert W., Adebambo A.O., Danladi Jatau I., Raman M., Parker D., Rushton J., Tomley F.M., 2020. Vet. Res., (51), 115
Tensa, L.R., Jordan, B. J., 2019. Poultry Science, (98), 634-641
Chapman, H.D., Roberts, B., Shirley, M.W., 2005. Avian Pathology, (34), 279-290
Johnson J., Reid M.W, 1970. Exp. Parasitol., (28), 30-36

Tableau 1. Identification morphologique des espèces vaccinales par microscopie (Laboratoire parasitologie ANSES Ploufragan)

	J6	J12	J14	J16	J21
Pulvérisation sur les poulettes (B01 Lot 01)	Petit type *E. acervulina*	Petit type *E. acervulina*	Petit type *E. acervulina*	*E. maxima,* petit type *E. acervulina* et moyen type E. *tenella*	*E. maxima,* petit type *E. acervulina* et moyen type *E. tenella*
Pulvérisation sur l'aliment (B01 Lot 02)	Petit type *E. acervulina*	Petit type *E. acervulina* et moyen type *E. tenella*		*E. maxima,* petit type *E. acervulina* et moyen type *E. tenella*	*E. maxima,* petit type *E. acervulina* et moyen type *E. tenella*

Figure 1. Dynamique des réplications des oocystes post vaccination sur les poulettes

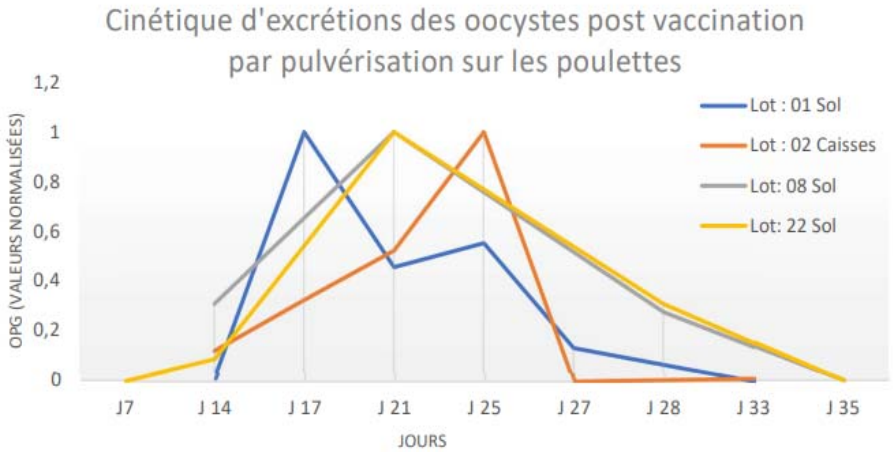


Figure 2 : Dynamique des réplications des oocystes post vaccination sur aliment

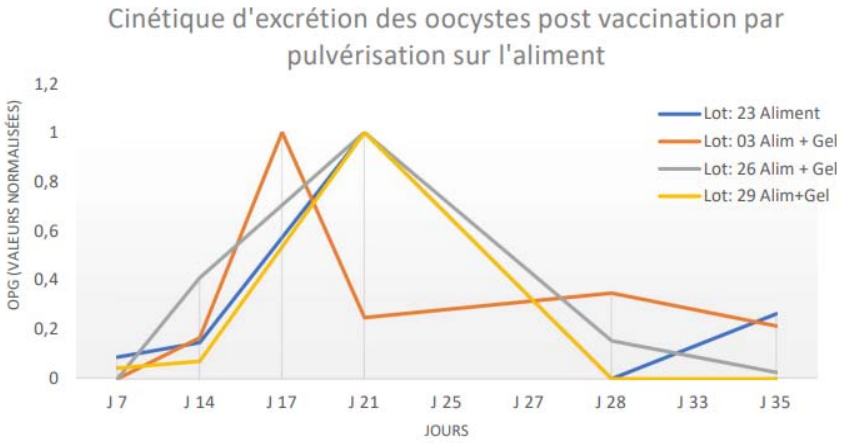


Figure 3. Comptage d'oocystes post-vaccination par pulvérisation sur les poulettes

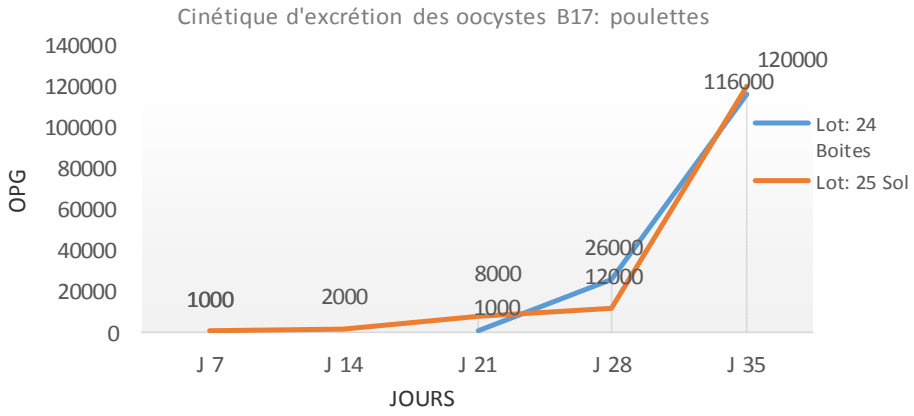
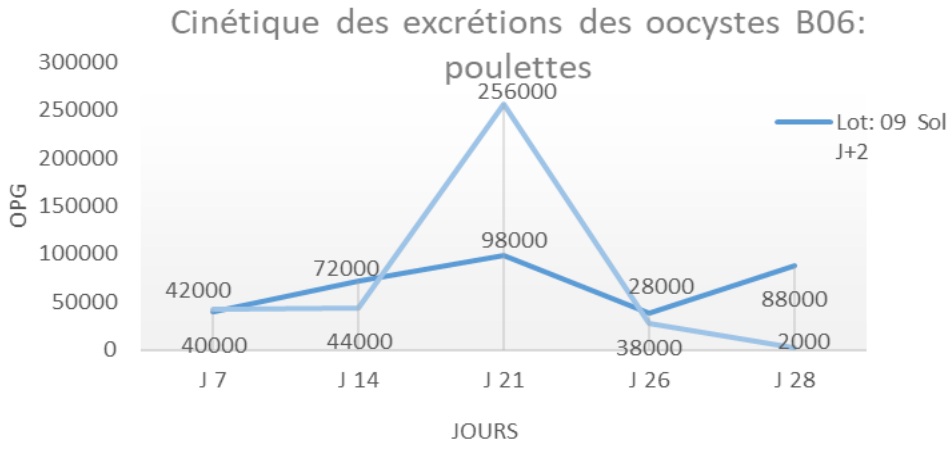


Figure 4. Comptages d'oocystes post-vaccination par pulvérisation sur les poulettes



SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Synthèse

SALMONELLA A TRAVERS LES FILIERES ANIMALES

Salmonella multi-filières

Bonifait Laetitia[1], Collot Frédéric[2], Adeline Huneau-Salaün[3], Marc Tabouret[4], Guyard-Nicodème Muriel[1] et Chemaly Marianne[1]

[1]Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Hygiène Qualité des Produits Avicoles et Porcins, BP53, 22440 Ploufragan, France

[2]CAVAC, Boulevard Réaumur, 85000 La Roche-sur-Yon

[3]Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Epidémiologie, Santé et Bien-Etre, BP53, 22440 Ploufragan, France

[4]Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité de Pathologie et Bien-Etre des Ruminants, 60 rue Pied de fond, CS 28440, 79024 Niort, France

laetitia.bonifait@anses.fr

RÉSUMÉ

La salmonellose représente la deuxième cause d'infection humaine d'origine alimentaire en Europe. L'infection peut être transmise à l'Homme tout au long de la chaine alimentaire, mais plus généralement par le biais d'aliments d'origine animale contaminés. Cette synthèse a pour objectif de présenter un état des lieux des principaux sérotypes de *Salmonella* retrouvés chez l'Homme et dans différentes productions animales et de commencer à documenter les contaminations croisées et la circulation de *Salmonella* entre les filières.

ABSTRACT

***Salmonella* through animal productions**

Salmonellosis remains the most frequently reported disease for foodborne outbreaks in Europe. The infection can be transmitted to humans throughout the food chain, and usually through contaminated food of animal origin. This overview aims to present the main *Salmonella* serotypes found in humans and in the different animal productions. It also addresses cross-contaminations and the circulation of *Salmonella* between animal productions.

INTRODUCTION

Les salmonelles sont des bactéries zoonotiques, préoccupantes pour la santé humaine et animale. Ce sont des bactéries à Gram négatifs, anaérobies facultatives qui appartiennent à la famille des Entérobactéries (*Enterobacteriaceae*) et qui sont responsables de 180 millions (soit 9%) des maladies diarrhéiques qui surviennent chaque année dans le monde (Besser 2018). Les salmonelloses représentent la deuxième cause de maladies d'origine alimentaire en Europe (EFSA-ECDC, 2021). Elles se manifestent principalement par une gastro-entérite mais peuvent affecter de façon plus grave certaines populations sensibles (âgées, immunodéprimées).

Salmonella est un pathogène présentant une nomenclature complexe qui évolue continuellement ; à ce jour il est divisé en deux espèces, *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*. L'espèce *S. enterica* est elle-même divisée en huit sous-espèces (*enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV), *indica* (VI), VII et VIII) (Grimont and Weill 2007, rapport CNR 2020).

Salmonella enterica représente l'espèce la plus pathogène, elle comprend à elle seule plus de 2500 sérotypes et peut coloniser avec succès les humains, les animaux, les plantes et se retrouver dans l'environnement. La sous-espèce *enterica* (I) est généralement attribuée aux animaux d'élevages (volailles, porcs, bovins) alors que la sous espèce *arizonae* (IIIa) est davantage associée aux animaux à sang froid. Parmi, les principaux sérotypes de l'espèce *S. enterica*, *S.* Typhimurium et *S.* Enteritidis sont prédominant dans le monde et souvent associés à des épidémies d'origine alimentaire (consommation de viande insuffisamment cuite, de bœuf haché, de produits laitiers, et d'œufs). La plupart des sérotypes possèdent une large gamme d'hôtes et peuvent ainsi infecter une grande variété d'animaux, notamment des mammifères, des oiseaux, des reptiles, des amphibiens et des insectes (Silva, et al. 2014). Toutefois, certains sérotypes semblent adaptés à un hôte en particulier (ex : *S.* Dublin chez les bovins). Tous conservent la capacité de provoquer des maladies chez des hôtes alternatifs comme l'Homme.

SALMONELLA CHEZ L'HOMME

L'Union Européenne (UE) a mis en place, en 2003, un programme de contrôle étendu des zoonoses (la directive 2003/99/CE). Ainsi, en respect du règlement n°2160/2003 de l'UE et de ses modifications subséquentes, il est réalisé une surveillance de *Salmonella* spp. tout au long de la chaîne alimentaire, à partir du stade des productions primaires (élevage) jusqu'au stade de la distribution (consommateur). Cette préoccupation est de l'ordre de la santé publique, afin d'éviter toute toxi-infection alimentaire à *Salmonella* chez l'Homme car la contamination s'effectue majoritairement lors de la consommation d'aliments contaminés consommés crus ou insuffisamment cuits. Traditionnellement, les sources alimentaires les plus communément identifiées de salmonelloses humaines sont les œufs, la volaille, et les produits carnés, mais il ne faut pas sous-estimer d'autres denrées telles que les fromages au lait cru et les crudités (tomates)... (Heredia et al. 2018).

Avec 87 923 cas de salmonelloses confirmées chez l'Homme en 2019, *Salmonella* représente le deuxième pathogène responsable d'infections gastro-intestinales humaines d'origine alimentaire en Europe (EFSA-ECDC 2021). En 2019, le Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (CNR-ESS) a enregistré 10 305 isolements de *Salmonella* d'origine humaine (rapport CNR 2020) en France, parmi ces isolement *S.* Enteritidis est le sérotype prédominant suivi par le variant monophasique *de S.* Typhimurium (1,4,[5],12:i:-) et *S.* Typhimurium. D'autres sérotypes, comme S. Chester (filière aviaire au Maroc), S. Dublin (filière bovine) et S. Derby (filière porcine), ont aussi été mis en évidence et correspondent à une source connue pour laquelle il y a un manque d'exigences réglementaires ou de mesures de biosécurité efficaces.

SALMONELLA DANS LES PRINCIPALES FILIERES ANIMALES

L'omniprésence dans les productions animales et dans l'environnement de *Salmonella* ainsi que leur pouvoir pathogène constituent une préoccupation majeure dans la plupart des filières animales (Corrégé 2001). Les animaux de rente sont destinés à la consommation humaine, par conséquent, leur contamination par *Salmonella* constitue un danger, pour les catégories professionnelles travaillant au contact des animaux pendant les phases d'élevage et de transformation, mais également pour les consommateurs (Ganière, et al., 2001). A l'élevage, les animaux cliniquement malades représentent un risque supplémentaire pour l'homme, car ils sont susceptibles de libérer des concentrations plus importantes en *Salmonella* que des animaux apparemment sains (Hoelzer et al. 2011).

Suite au règlement (CE) n°2160/2003, la France, a mis en application des Programmes Nationaux de Lutte contre *Salmonella* dans la filière avicole, afin de réduire la prévalence des sérotypes de *Salmonella* considérés préoccupants pour la santé publique. Malgré la mise en place de ces mesures de biosécurité, *S.* Enteritidis et *S.* Typhimurium continuent de figurer parmi les principaux sérotypes retrouvés dans la filière avicole avec, de surcroit, une augmentation du variant monophasique de *S.* Typhimurium dans cette filière. Le portage de *Salmonella* chez les volailles et les porcs est principalement asymptomatique, ce qui rend difficile le diagnostic de *Salmonella* dans ces élevages. Dans la filière porcine en France, les sérotypes retrouvés par ordre d'importance sont *S.* Derby, le variant monophasique de *S.* Typhimurium et *S.* Typhimurium

(Naberhaus et al. 2019). Face aux objectifs fixés par l'Union Européenne, les états membres ont été dans l'obligation de mettre en place des dispositifs de surveillance et de prendre des mesures efficaces pour contrôler l'infection et la contamination par *Salmonella* également dans la filière porcine (De Busser et al. 2013). Il a ainsi été décidé par la direction générale de l'Alimentation (DGAl) de mettre en place un système de collecte et de centralisation des résultats des autocontrôles réalisés en application du règlement (CE) N°2073/2005 dans tous les abattoirs de porcs (prévalence estimée à environ 5% sur les carcasses de porcs, (EFSA-ECDC, 2021). Présente naturellement dans l'environnement, *Salmonella* spp. peut contaminer le tractus digestif des bovins, y séjourner sous forme asymptomatique ou s'y développer et provoquer des symptômes. En France, une étude à l'abattoir, a montré une prévalence de 3 % chez les bovins (Bonifait et al., 2021). *S.* Dublin*, S.* Montevideo et *S.* Typhimurium, font partie des sérotypes les plus retrouvés chez les bovins (Gutema et al. 2019).

CONTAMINATIONS CROISEES ENTRE LES FILIERES

Les mesures de prévention du Programme National de Lutte contre les salmonelles ont montré, dès leur application des effets bénéfiques sur la réduction du nombre de cas de salmonelloses humaines et sur la diminution de la prévalence de *Salmonella* dans la filière avicole. Cependant, depuis les 5 dernières années cette tendance s'est stabilisée, et semble même s'inverser avec une augmentation des cas de contamination à *Salmonella* en particulier chez les poules pondeuses et pour le sérotype *S.* Enteritidis (EFSA-ECDC, 2021).

Cette augmentation ne s'explique pas encore mais, ces données conduisent à s'interroger sur la présence et la circulation de *Salmonella* au sein des filières animales. En effet, des retours terrains suggèrent l'implication d'autres filières dans l'augmentation des cas de *Salmonella* en filière avicole. La présence de plusieurs exploitations voisines (parcelles en limite de propriété, différents ateliers à proximité, zones de circulation communes, *etc*.) sur un même territoire (même environnement), avec des activités d'élevage variées (volailles, bovins, porcins, *ect*.) pourrait être un risque. Par ailleurs, on constate aujourd'hui, une modification des pratiques d'élevages qui s'adaptent aux évolutions de la société (nouveaux équipements, nouveaux bâtiments, accès à l'extérieur, *etc*.) afin de prendre davantage en compte le bien-être animal et la préservation de l'environnement. Ainsi, la co-existence dans la même exploitation de plusieurs ateliers de productions animales (ex : bovins-volailles, bovins-porcins), toutes susceptibles à l'infection salmonellique, pourrait être un facteur de risque de contamination, d'autant plus marqué que les animaux comme les volailles et les porcs tendent à avoir plus souvent accès à l'extérieur. L'implication de ces autres filières animales dans les contaminations par *Salmonella* pourrait être d'autant plus importante dans les régions concentrées en forte densité d'élevages comme la région « Grand Ouest : Bretagne, Pays de la Loire » qui totalise à elle seule environ 75 % de la production nationale de porcs, 60 % de la production nationale de « volailles », et 43 % de la production bovine (Deroin et al., 2015).

Il y a en France, à notre connaissance, peu de données dans la littérature permettant de documenter les contaminations croisées et la circulation de *Salmonella* entre les filières. Le projet SACACIR, réalisé à l'Anses de Ploufragan-Plouzané-Niort entre 2020 et 2021 avait pour but d'apporter de nouvelles informations en réalisant un état des lieux des pratiques d'élevages et du portage asymptomatique de *Salmonella* dans ces environnements. Dans ce but, une collecte de données épidémiologiques et de prélèvements dans plusieurs poly-élevages volailles (plein air) – bovins de la région Nouvelle Aquitaine, a été réalisée afin d'étudier la circulation et les potentiels liens phylogénétiques par séquençage du génome entier (WGS) entre les isolats associés à différentes origines.

Les premiers résultats ont montré la présence de *Salmonella* à divers endroits dans certains de ces poly-élevages : au niveau des deux ateliers (volailles, bovins) des pâturages, des voies de circulation communes et/ou dans les fumiers et lisiers. Plus précisément, dans un poly-élevage, des isolats d'un même sérotype de *Salmonella* ont été isolés à l'abord du bâtiment volaille, dans des fèces de vaches, et sur un matériel (commun aux deux ateliers). Après séquençage, ces isolats ont été regroupés au sein d'un même HC5|cluster, ce qui signifie que ces souches présentent au maximum 5 variations alléliques entre elles sur un des 3002 gènes comparés dans le schéma de cgMLST d'EnteroBase (http://enterobase.warwick.ac.uk/). Selon les critères établis par le Centre National de Référence et le Laboratoire de Référence de l'Union Européenne pour *Salmonella*, une variation de 5 allèles (ou moins) entre des souches (HC5|cluster) indique un potentiel lien épidémiologique entre elles. Ainsi, il a été montré une circulation des souches de *Salmonella* au sein d'un même élevage. Cependant, lors de ce projet, un seul point de prélèvement (en été), a été réalisé et par conséquent les résultats ne reflètent qu'un instantané de la situation de la contamination.

MISE EN EVIDENCE DES CONTAMINATIONS A *SALMONELLA*

D'un point de vue « terrain », il est fréquent de réaliser une étude environnementale, en élevage de chair (poulet ou dinde) lors d'une contamination par

S. Enteritidis ou *S*. Typhimurium, de façon à mettre en évidence l'importance de cette contamination et essayer d'en identifier sa source. Ainsi, il a pu être mis en avant dans différents élevages de la région Pays-de-la-Loire plusieurs cas où la contamination n'était pas limitée aux bâtiments avicoles et à cette filière.

La contamination par *Salmonella* est souvent présente aux abords des bâtiments ainsi que dans les ateliers voisins. Pour exemple, à la suite de la détection de *S*. Enteritidis, dans un lot de dindes, une enquête épidémiologique a été réalisée et a permis la détection de ce pathogène dans la basse-cour, établie dans une ancienne souille a cochons, tenue par le père de l'éleveur. La contamination du bâtiment volaille s'est faite *via* un non-respect des procédures de biosécurité au niveau du sas (pas de changement de tenue, ni de chaussures) lors des visites du week-end. Par ailleurs, les chiens de chasse, abrités dans la souille voisine de la basse-cour et nourris avec les cadavres de poules, se sont révélés être porteurs sains.

Un autre exemple de lot de dindes infectées par *S*. Enteritidis, a permis de montrer la présence de cette salmonelle dans une stabulation bovine située à proximité, et ceci en l'absence de signe clinique. Suite au nettoyage désinfection du bâtiment, il a été montré la présence de *S*. Enteritidis sur un extracteur d'air. Par conséquent, le bâtiment a subi une nouvelle étape de nettoyage-désinfection en parallèle, la stabulation a été vidée, nettoyée et désinfectée. Bien que les contrôles aient été négatifs, l'année suivante l'élevage de volaille s'est révélé de nouveau positif pour *S*. Enteritidis et a ensuite été arrêté.

En 2020, un lot de poules pondeuses bio s'est révélé positif à *S*. Enteritidis sur un prélèvement de contrôle sur chiffonnettes d'environnement à 53 semaines. Il s'agit d'un élevage multi-productions : poules pondeuses bio, porcs bio et bovins d'un bon niveau de biosécurité. Lors d'une enquête approfondie un seul prélèvement sur le parcours volaille est revenu positif à *S*. Mbandaka. Les prélèvements dans la stabulation bovine ont tous été négatifs. Par contre, il a été montré la présence du variant monophasique de *S*. Typhimurium sur l'élevage de porcs. Cette salmonelle a ensuite été retrouvée au niveau de l'élevage naisseur. Un vide sanitaire avec nettoyage désinfection a été effectué et une vaccination a été mise en place sur les porcelets. Aucune nouvelle mise en évidence de *Salmonella* sur les porcelets n'a été notée ainsi qu'une absence de contamination sur les lots successifs de poules pondeuses.

Sur un site 4 bâtiments de dindes anciens avec une forte présence de bois, il a été démontré une récurrence de la contamination à *S*. Saint-Paul chez des dindes dûe à un portage de *Salmonella* par les ténébrions. De surcroît, si l'éleveur respectait bien les sas, il utilisait les mêmes récipients en plastique pour transporter les volailles mortes et de la recharge de litière neuve.

La persistance d'une contamination d'un lot sur l'autre est souvent liée à un mauvais respect des règles de biosécurité (en particulier à la bonne conception du sas sanitaire volailles et de son nettoyage et désinfection pendant le lot, ainsi qu'au nettoyage et à la désinfection du matériel introduisant de la litière propre dans le poulailler en élevage mixte), à la vétusté des bâtiments difficilement désinfectables ou à l'infection par des insectes.

CONCLUSION

Il est important de respecter les mesures d'hygiène et de biosécurité à tous les stades de la chaine alimentaire, des productions primaires jusqu'au consommateur, par conséquent l'amélioration des connaissances sur la prévalence de *Salmonella* dans les filières animales, en particulier dans ces poly-élevages est importante. Les études terrains réalisées par les vétérinaires ainsi que le projet SACACIR ont permis de mettre en évidence une possible circulation de *Salmonella* au sein d'un élevage. Il serait désormais intéressant de caractériser les flux de ce pathogène à l'échelle de son territoire (en prenant en compte les exploitations voisines s'il y en a et les différents acteurs intervenant sur l'élevage) ainsi que d'évaluer la mise en place de mesures de biosécurité sur des pratiques considérées à risque dans ces élevages.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée par l'Agence Nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail (Anses), site de Ploufragan - Plouzané - Niort en collaboration avec FRGDS Nouvelle-Aquitaine.

Nous remercions également tous les éleveurs ayant accepté de participer au projet de recherche SACACIR.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bonifait L., 2021, Microorganisms, (4), 872
Corrégé I., 2001. Techni Porc, (24), 25-31
De Busser, E. V., 2013. Vet J, (196), 20-27
Deroin V., 2015. INSEE Analyses Pays de la Loire, (24)
EFSA Journal, 2021. 19(2) : 6406
Ganière J.P., 2001. Med Maladies Infectieuses, (31), 143-158
Grimont, P. A. D. and F. X. Weill, 2007. WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella* Institut Pasteur
Gutema, F. D., 2019. Front Vet Sci, (6), 102
Heredia N., 2018. Anim Nutr, (4), 250-255
Hoelzer, K., 2011. Vet Res, (42), 34
Naberhaus, S. A., 2019. Front Vet Sci, (6), 502
Rapport d'activité, 2019, 2020. CNR ESS https://www.pasteur.fr/fr/file/40811/
Silva C., 2014. Microbiol Spectr, 2(1):OH-0020-2013. DOI:10.1128/microbiolspec.OH-0020-2013

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Communications orales

CARTOGRAPHIE DE LA DETECTION D'UN VIRUS REASSORTANT DE LA BURSITE INFECTIEUSE EN POULET DE CHAIR EN FRANCE.

Moreau Elisabeth[1], Mouchel Simon[1], Castagnos Stéphanie[1]

[1]Ceva Santé Animale - 10 avenue de la Ballastière - 33500 Libourne
elisabeth.moreau@ceva.com

RÉSUMÉ

Le virus de la maladie de Gumboro ou bursite infectieuse, distribué mondialement, provoque une maladie immunosuppressive chez les jeunes poulets et poulettes. Des souches réassortantes de virus de la bursite infectieuse (IBDV / maladie de Gumboro) ont été détectées en Europe depuis 2017. Mato et al. ont décrit un nouveau type de virus réassortant en 2020. Il est caractérisé par une VP2 vvIBDV (very virulent IBDV, genogroupe 3) et une VP1 classique. Les infections provoquées par ces réassortants ont été décrites par Mato comme subcliniques sur le terrain (en l'absence d'agent compliquant) et testées en conditions standardisées sur des oiseaux SPF (ni mortalité ni signes cliniques n'ont été observés). La pathogénicité de ces souches en conditions terrain n'est pas encore parfaitement connue. Cette étude a été conduite en France entre le premier et le troisième trimestre 2021.

Dans un premier temps, ont été recrutés des lots de poulets qui présentaient des résultats technico-économiques dégradés, puis nous avons élargi l'étude à des lots pris au hasard, afin d'évaluer la prévalence de ces réassortants sur un périmètre plus large.

Les souches détectées en France dans le cadre de cette étude présentent un fort taux d'homologie de la VP2 avec la souche réassortante MN786768 (souche Mato). Ces virus ont été détectés par PCR et séquençage.

Cette enquête a permis de détecter la présence de ces nouveaux virus réassortants dans plusieurs régions du territoire français. La cartographie de ces isolats est présentée ici.

Ces souches circulent peut-être depuis longtemps sur le territoire français mais les méthodes d'analyses utilisées sur le terrain ne permettaient pas toujours de les identifier. En effet, elles ne sont pas détectables par toutes les méthodes PCR classiquement utilisées dans les laboratoires d'analyses. Nous supposons que la prévalence de ces virus réassortants est plus importante que celle présentée dans cette publication.

La présence de ce type de virus doit être prise en considération par l'accompagnement vétérinaire et technique des élevages en vue d'adapter les protocoles de biosécurité et de prophylaxie vaccinale.

ABSTRACT

Reassortant of infectious bursal disease virus on broilers in France.

Gumboro disease virus or infectious bursal disease virus, worldwide distributed, causes immunosuppressive illness in chickens.

Reassortant strains of infectious bursal disease (IBDV / Gumboro disease) were detected in Europ since 2017. Mato et al., described these new reassortant strains in 2020. Their caracteristics are a VP2 vvIBDV (very virulent IBDV, genogroup 3), and a classic VP1. Infections caused by these reassortants were described by Mato as subclinical in the field (in the absence of complicating agent) and tested in standardized pathogenicity test in SPF layer chicken (no mortality or clinical signs occured). Pathogenicity of these strains in field conditions are not already well known. This study was conducted in France between first and third trimester 2021.

First, broiler flocks were recruited with degraded technicoeconomical results, then, the study was extended to flocks taken at random in order to assess reassortant strains prevalence over a wider area.

Detected strains in France during this study have a huge VP2 homology with reassortant strain MN786768 (Mato strain). These viruses were detected by PCR and sequencing. Our investigation made it possible to detect the presence of these new reassortant viruses emerging in several regions of French territory.

We present here the cartography of these isola.

These strains have perhaps been circulating for a long time on French territory, but the methods of analysis used in the field did not always allow them to be identified. Indeed, they are not detectable by all the PCR methods conventionally used in laboratories. The prevalence of these reassortant viruses is probably greater than that presented in this publication.

The presence of this virus type must be taken into account by veterinarians and technical support in order to adapt the biosecurity and vaccine prophylaxis protocol.

1. INTRODUCTION

La bursite infectieuse, aussi appelée maladie de Gumboro est causée par un virus membre du genre Avibirnavirus (famille des Birnaviridae). La maladie de Gumboro est une maladie très contagieuse provoquant une immunosuppression quand l'infection surgit précocement chez le poulet ou la poulette future pondeuse. Le virus de la bursite infectieuse est un virus non-enveloppé. Cette particularité morphologique le rend très résistant dans l'environnement des élevages avicoles. Il a un génome constitué de deux segments d'ARN double brin, nommés les segments A et B respectivement. (Muller et al.,1979). Le segment A contient deux ORF (open reading frames). Le plus long code pour la polyprotéine VP2-VP4-VP3 qui se clive ensuite en VP2 (viral protein 2), la protéine de capside qui forme la surface externe du virion. C'est la protéine la plus immunogène, qui est responsable de la production d'anticorps neutralisants. La polyprotéine se clive également en VP4, la protéase virale responsable du clivage de la polyprotéine et en VP3, la ribonucléoprotéine. Le plus petit ORF code pour la VP5, un facteur pro-apoptotique dont on pense qu'il facilite la libération du virus. Le segment B code pour la VP1, la polymérase virale (Eterradossi et Saif, 2013).

Deux sérotypes d'IBDV (virus de la bursite infectieuse) ont été décrits. Les virus du sérotype 1 peuvent être catégorisés comme subcliniques (naturels ou atténués), variants, classiques, et hypervirulents (very virulent IBDV, vvIBDV) (Jackwood, et al, 2018). Les virus de sérotype 2 ne sont pas pathogènes. Les souches virulentes provoquent une sévère nécrose lymphoïde et une inflammation de la bourse de Fabricius des poulets infectés, résultant en des niveaux variables de mortalité et d'immunodéficience qui dépendent de la virulence de la souche, de la lignée génétique des volailles (ponte ou chair), du niveau d'anticorps d'origine maternelle et de l'âge des animaux au moment de l'infection. Les souches hypervirulentes (vvIBDV) ont été pour la première fois isolées en Europe sur des poulets à la fin des années 80 (Chettle, 1989). Elles peuvent provoquer une forte morbidité et jusqu'à plus de 30% de mortalité (Saif, 2013). Les souches de variant antigénique qui sont devenues prédominantes sur le continent américain, provoquent habituellement des infections subcliniques.

Les birnavirus peuvent évoluer, par mutation ou par réassortiment du génome, et beaucoup plus rarement par recombinaison.

Des souches réassortantes de virus de la bursite infectieuse ont été détectées en Europe depuis 2017. Mato et al. ont décrit un nouveau type de virus réassortant en 2020. Il est caractérisé par une VP2 vvIBDV (génogroupe 3) et une VP1 classique génogroupe 1). Les infections provoquées par ces réassortants ont été décrites comme subcliniques sur le terrain (en l'absence d'agent compliquant) et testées en conditions standardisées sur des oiseaux exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS). Ni mortalité, ni signes cliniques n'ont été observés, mais une atrophie marquée de la bourse de Fabricius (données internes Ceva Santé Animale). La pathogénicité de ces souches sur le terrain n'est pas encore bien connue.

Cette étude porte sur l'identification de souches de ce type sur le territoire français en 2021.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Sélection des lots de poulets.

Les lots de poulets inclus dans notre étude ont été sélectionnés soit de façon aléatoire dans le cadre de suivis épidémiologiques réalisés en routine dans des élevages français par le laboratoire Ceva Santé Animale, soit de manière ciblée dans le cadre de suspicions cliniques manifestées par des baisses de performances techniques.

2.2. Echantillonnage

Le matériel biologique de choix utilisé pour la recherche de virus IBDV est la bourse de Fabricius. Le prélèvement de la bourse de 4 à 10 poulets de chair par lot d'élevage a été pratiqué à l'âge moyen de 35 jours, suite à l'autopsie de sujets représentatifs des lots étudiés.

2.3. Techniques d'analyse

Extraction de l'ARN, RT-PCR et séquençage.
Après élution de la carte FTA, avec prélèvements poolés par carte dans du PBS, l'extraction de l'ARN a été réalisée en utilisant le kit High Pure Viral Nucleic Acid (Roche™, Basel, Switzerland) selon les instructions du fabricant. Les échantillons d'ARN ont ensuite été analysés avec une méthode RT-PCR en une étape visant la région hypervariable de la VP2. La paire d'amorces utilisée était 743-1 (5′-GCCCAGAGTCTACACCAT-3') et 743-2 (5′-CCCGGATTATGTCTTTGA-3'), conçue par Jackwood & SommerWagner en 2005. Ces amorces ont été également utilisées pour séquencer les échantillons positifs par Sanger.
Après l'évaluation de la qualité avec FinchTV (http://www.geospiza.com/Products/finchtv.shtml), les chromatogrammes obtenus ont été assemblés en séquences

consensuelles avec ChromasPro (Technelysium Pty Ltd, Helensvale, QLD, Australia).
Si une souche terrain était détectée, une autre analyse, basée sur une paire d'amorces B-Univ-F (5'-AATGAGGAGTATGAGACCGA-3') et B-Univ-R (5'-CCTTCTCTAGGTCAATTGAGTACC-3') conçue par Islam et al. (2012), a été utilisée pour amplifier et séquencer une portion de la VP1.
Toutes les PCRs ont été réalisées en utilisant le Super-Script™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ Taq DNA Polymerase kit (Invitrogen™, Waltham, MA, USA).

2.4. Classification des souches

La méthode MUSCLE (Edgar, 2004) a été utilisée dans Mega X (Kumar et al., 2018), les séquences de la VP1 et de la VP2 ont été alignées sur deux jeux séparés de données incluant les souches de référence décrites par Islam et al. (2021), et comprenant les souches réassortantes détectées en Europe du Nord par Mato et al. (2020). Deux arbres phylogénétiques ont par la suite été déduits en utilisant la méthode Neighbor Joining sur Mega X (Kumar et al., 2018) et utilisés pour classer les souches.

2.5. Légende des arbres phylogénétiques

La relation phylogénétique des souches détectées dans l'enquête épidémiologique (marquées par un rond noir) avec les séquences de référence de VP2 (a) et VP1(b) a été indiquée, en accord avec la classification d'Islam et al.(2021). L'intégration phylogénétique a été déduite en utilisant la méthode Neighbor Joining (Saitou et Nei, 1987). Le pourcentage d'homologie dans les arbres dans lesquels sont associés ensemble les taxa mis en cluster dans le test d'amorce (1000 réplicats) sont indiqués à côté des branches (Felsenstein, 1985)
Les analyses ont été réalisées dans le service du Professeur Mattia Cecchinato de l'Université de Padoue en Italie (Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS)).

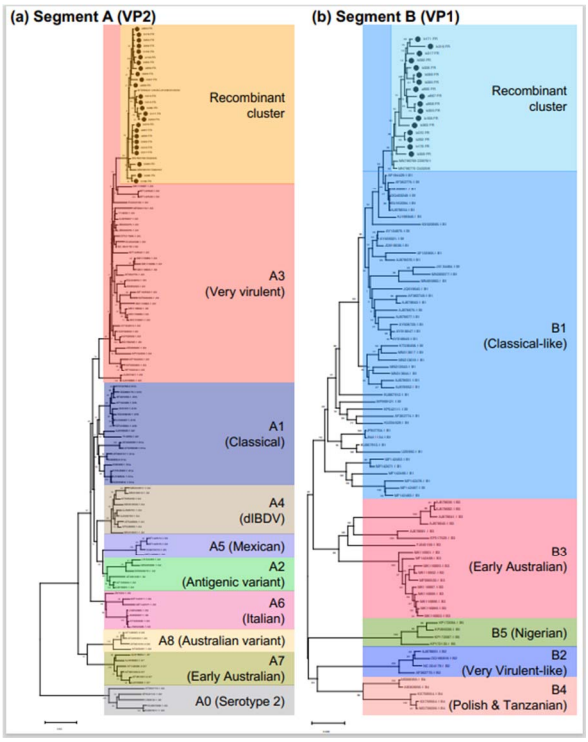
L'outil utilisé pour la représentation graphique est Google MyMaps.

3. RESULTATS

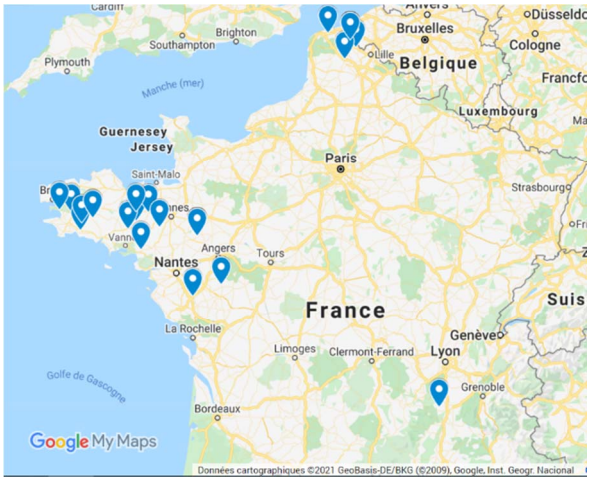
Cette étude a montré la présence de virus IBDV réassortants de type A3B1 similaires à ceux décrits par Mato et al., 2020, dans 24 sites d'élevage de poulet de chair situés dans différents bassins de production du territoire français. Ces 24 souches sont proches génétiquement et ont été classées dans un cluster particulier à la fois pour la VP1 et pour la VP2

Sur les 24 lots de poulets de chair positifs, un seul n'avait pas reçu de vaccination contre la maladie de Gumboro. Néanmoins, le but de cette étude était d'ordre épidémiologique en premier lieu ; de ce fait, aucune analyse de corrélation avec le programme vaccinal n'a été entreprise.
Aucune autre souche de virus de la maladie de Gumboro sauvage n'a été détectée sur le terrain au cours de cette enquête épidémiologique.

Arbres phylogénétiques :



Cartographie des résultats :



4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude montre la présence de virus de la maladie de Gumboro dans des élevages avicoles de plusieurs bassins de production du territoire français. Il semble que les souches de virus sauvage de la maladie de Gumboro, de type réassortant aient diffusé de manière large sur le territoire. Ces souches sont semblables à celles détectées dans les pays du Nord de l'Europe depuis 2017. Sur 24 cas de détection de virus sauvage de la maladie de Gumboro en France en 2021 dans le cadre de ce suivi épidémiologique, aucun autre type de virus sauvage de la maladie de Gumboro n'a été détecté. Ces virus a priori provoquent peu de signes cliniques sauf s'ils agissent en co-infection avec d'autres agents pathogènes. Ces virus réassortants ont établi des infections récurrentes dans différents pays d'Europe depuis plusieurs années. Des mutations sur certains sites antigéniques suggèrent que ces souches ont un profil antigénique altéré qui pourrait les aider à passer de plus hauts niveaux d'anticorps d'origine maternelle contre la maladie de Gumboro que les souches typiques de vvIBDV. Pour prouver cette hypothèse, des investigations sur la caractérisation antigénique des virus de ce groupe sont nécessaires.

La problématique posée par la maladie de Gumboro en élevage avicole est toujours d'actualité en France. La surveillance des populations virales est donc essentielle. La maîtrise de la biosécurité et le suivi d'un plan de vaccination adapté sont les deux piliers de la lutte contre cette maladie.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Professeur Mattia Cecchinato pour sa contribution technique dans l'identification des souches virales présentées dans cet article.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chettle, N., J.C. Stuart, and P.J. Wyeth. 1989. Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia. Vet Rec. 125:271-272.

Edgar RC. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. (2004). *Nucleic Acids Research*, 32: 1792–1797.

Eterradossi, N., & Saif, Y.M. (2013). Infectious bursal disease. In D.E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez & V.I. Nair (Eds). Disease of poultry 13th edn (pp.219-246). Hoboken, NJ : Wiley-Blackwell.

Felsenstein J. (**1985**). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* **39**:783-791.

Islam, M.R., Rahman, S., Noor, M., Chowdhury, E.H. & Müller, H. (2011). Differentiation of infectious bursal disease virus (IBDV) genome segment B of very virulent and classical lineage by RT-PCR amplification and restriction enzyme analysis. *Archives of Virology*, 157, 333-6.

Islam MR, Nooruzzaman M, Rahman T, Mumu TT, Rahman MM, Chowdhury EH, Eterradossi N and H Müller. (2021). A unified genotypic classification of infectious bursal disease virus based on both genome segments. *Avian Pathology*, 50: 190-206.

Jackwood, D.J. & Sommer-Wagner, S.E. (2005). Molecular Epidemiology of Infectious Bursal Disease Viruses: Distribution and Genetic Analysis of Newly Emerging Viruses in the United States. Avian Diseases, 49, 220-226.

Jackwood, D.J, Schat, K.A., Michel, L.O. & de Wit, S. (2018). A proposed nomenclature for infectious bursal disease virus isolates. Avian Pathology, 47, 576-584

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution, 35, 1547–1549.

Mató T, Tatár-Kis T, Felföldi B, Jansson DS, Homonnay Z, Bányai K, Palya V. Occurrence and spread of a reassortant very virulent genotype of infectious bursal disease virus with altered VP2 amino acid profile and pathogenicity in some European countries. Vet Microbiol. 2020 Jun;245:108663. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108663. Epub 2020 May 4. PMID: 32456810.

Muller, H., Scholtissek, C. & Becht, H. (1979). The genome of infectious bursal disease virus consists of two segments of double stranded RNA. Journal of Virology, 31, 584-589.

Saitou N. and Nei M. (**1987**). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**:406-425.

Soubies, S.M., Courtillon, C., Briand, F.X., Queguiner-Leroux, M., Courtois, D., Amelot, M., Grousson, K., Morillon, P., Herin, J.B., Eteradossi, N., 2017. Identification of a European interserotypic reassortant strain of infectious bursal disease virus. Avian Pathol. 46, 19-27.

SUIVI TERRAIN DE LA DECROISSANCE DES ANTICORPS MATERNELS CONTRE L'ENTERITE HEMORRAGIQUE DE LA DINDE (EH)

Turblin Vincent[1], Perreul Guillaume[2], Lemière Stéphane[2]

[1]MCVET Conseil – Rue des Séguinières – 72300 SABLE sur SARTHE
[2]Boehringer Ingelheim - 29 Avenue Tony Garnier - 69007 LYON
v.turblin@mcvet.fr

RESUME

Aujourd'hui, le taux d'anticorps maternels dirigés contre le virus de l'entérite hémorragique (HEV) atteint son niveau minimal avant 28 jours de vie chez le dindon, possiblement en rapport avec l'amélioration continue des performances de croissance.

L'objectif du suivi est d'une part d'évaluer la décroissance des anticorps maternels anti-HEV, et d'autre part développer un modèle prédictif de décroissance des anticorps.

Une cohorte de 40 dindonneaux chair, souche « intermédiaire » de performance de croissance, a été suivie en sérologie à 7 reprises entre J1 et J29. Les sérums ont été analysés avec un kit ELISA. Les titres en anticorps ont été analysés avec une méthode statistique, un modèle de régression.

L'hétérogénéité des titres est élevée à J1. Les pourcentages de titres sérologiques inférieurs au seuil de positivité sont respectivement de 5% à 21 jours de vie, 45 % à 23 jours de vie, 63 % à 27 jours de vie et 41 % à 29 jours de vie.

Un modèle de régression ($R^2 = 0,911$) approche le titre moyen en fonction de l'âge avec la formule suivante :

Titre moyen anticorps = 20524 – 1621*(âge en jours) +33*(âge en jours)²

Entre 23 et 27 jours de vie, le taux d'anticorps est au plus bas avec un minimum atteint à 27 jours. Une cinétique individuelle aurait permis d'affiner le modèle de régression. La détermination de l'âge auquel le taux d'anticorps est au plus bas permet de mieux positionner la date de vaccination contre l'entérite hémorragique. En effet, ce virus étant endémique en élevage de dindes, l'immunisation active doit pouvoir débuter au plus tôt, dès que le niveau d'anticorps maternels est au plus bas. En conséquence, la recommandation de l'âge à la vaccination doit se superposer à l'âge auquel le taux le plus bas est atteint. La stratégie de contrôle de l'entérite hémorragique repose en effet sur la vaccination à âge cible, combinée à des mesures de biosécurité de nettoyage désinfection.

ABSTRACT

Field monitoring of Hemorrhagic Enteritis Virus (HEV)- maternally derived antibodies (MDA) kinetics in turkey poults

Nowadays HEV ELISA MDAs mean titers usually reach their minimum titers earlier than 28 days of age, probably linked to genetic improvement. The objectives of the study are to determine the kinetics of the antibody titer decrease and to establish a predictive model of decrease of these antibodies. A cohort of 40 turkey poults whose genetic line is recorded as of intermediate growth were sampled individually at 7 time points between day 1 to day 29 (without specific identification of the individual poult). The collected sera are analyzed using the ProFlok ELISA kit (Synbiotics, USA). Titers were analyzed by linear regression. HEV vaccination occurred at day 28. The antibody titers are heterogeneous at one-day old. The percentages of serological titers below positive threshold are respectively: 5% at day 21, 45% at day 23, 63% at day 27 and 41% at day 29. According to the established regression model ($R^2 = 0,911$) the ELISA titer decreases according to the following equation:

Antibody mean titer = 20524 – 1621*(age in days) +33*(age in days)²

The MDA mean titers are at their lowest between days 23 and 27. An individual kinetic study on identified birds would have precised this regression model. The model can indicate the target vaccination age that should be at the lowest estimated mean HEV ELISA titer. This vaccination cannot be skipped since HEV is circulating among turkey flocks in an enzootic way. Additionally, neutralization of the live HEV vaccine occurs in MDA-positive poults. Therefore, the strategy for control of HEV infection is based on serological monitoring, on vaccination at the targeted age and on proper biosecurity measures, such as cleaning and disinfection.

INTRODUCTION

L'entérite hémorragique du dindon (EH) est une maladie virale aiguë des dindons âgés de 4 semaines ou plus. Elle est caractérisée par une apathie, des fientes hémorragiques, une hypertrophie de la rate d'aspect marbré et évolue vers la mort. Elle est rare chez les dindonneaux âgés de moins de 4 semaines, vraisemblablement en raison d'une immunité passive transmise par les anticorps vitellins [1]. La forme immunodépressive accompagnée de surinfection secondaire est aujourd'hui dominante [2].

Etant donné la circulation ubiquitaire du virus dans les zones de haute densité d'élevages de dindes [3], et l'interférence entre les anticorps maternels et les anticorps induits par le vaccin vivant, il importe de vacciner à l'âge auquel le niveau d'anticorps maternels est au plus bas. En Allemagne, certains vétérinaires ont essayé une vaccination plus précoce avant 28 jours d'âge et ont obtenu la protection clinique attendue [2]. En France, une pratique consiste à différer la vaccination contre l'entérite hémorragique si elle devait se superposer à une période à risque digestif (transition alimentaire, expression de coccidies).

L'objectif de l'étude est d'investiguer la cinétique de décroissance des anticorps maternels dans un élevage de dinde chair, souche « intermédiaire » de performance de croissance, représentative de la production française.

MATERIELS ET METHODES

Un élevage de dinde chair implanté dans le département de la Sarthe a été sélectionné.
Une cohorte de 40 dindonneaux chair, souche « intermédiaire » de performance de croissance, a été suivie en sérologie à 7 reprises entre J1 et J29, respectivement à J1, J3, J7, J21, J23, J27 et J29. Les sérums n'ont pas été identifiés par individu. Les sérums ont été centrifugés, puis analysés en même temps avec le kit ELISA Synbiotics Proflock HEV au laboratoire d'analyses MCVET (Quiers-sur-Bézonde, France). Les anticorps sont exprimés en titres. Le seuil de positivité fixé à 147. Quatre classes de titres ont été déterminées : titres < 5000, 5000 < titres < 10000, 10000 < titres < 15000, titres > 15000. A chaque âge, un titre moyen a été déterminé après le calcul de la moyenne arithmétique des titres.
Les titres en anticorps ont été analysés avec une méthode statistique, un modèle de régression.
Les dindes ont été vaccinées contre l'entérite hémorragique à 28 jours de vie.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats sérologiques

La décroissance du titre moyen en anticorps est très forte, passant de 16 001 (+/- 2938) à 3 jours de vie à 210 (+/- 310) à 27 jours de vie. Le titre moyen diminue de 52 % en 2 jours entre 21 et 23 jours de vie, puis de 64 % en 4 jours entre 23 et 27 jours de vie. Le titre moyen reste très voisin du seuil de positivité à 27 jours de vie (Fig.1).

L'hétérogénéité des titres est élevée avec un coefficient de variation (CV) passant de 34 % à J7 à 90 % à J21.

Les profils de titres sont similaires entre J1 et J3 (Fig. 2). A 21 jours de vie, 5 % des dindonneaux ont un titre sérologique inférieur au seuil de positivité. A 23 jours de vie, 45 % des dindonneaux ont un titre sérologique inférieur au seuil de positivité. A 27 jours de vie, 63 % des dindonneaux ont un titre sérologique inférieur au seuil de positivité. A 29 jours de vie, 41 % des dindonneaux ont un titre sérologique inférieur au seuil de positivité (Fig.3). La remontée du titre anticorps pourrait s'expliquer par un contact avec du virus sauvage ; le site étant connu pour avoir présenté des lésions de rate marbrée dès 28 jours de vie sur un lot non vacciné contre l'entérite hémorragique.

En déterminant une classe de titres < 1000, le pourcentage de titres appartenant à cette classe atteint respectivement 60 %, puis 82 %, ensuite 97 % et enfin 95 % aux âges de 21, 23, 27 et 29 jours (Fig.3).

2. Analyse avec un modèle de régression

Un modèle de régression définit le titre moyen en fonction de l'âge des dindonneaux avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,911$.
La formule est ainsi déterminée :
Titre moyen = 20524 – 1621*(âge en jours) + 33*(âge en jours)²

Il serait intéressant de tester la robustesse de cette formule en comparant le titre moyen calculé d'après une moyenne de titres sérologiques à âge fixe, au titre moyen prédit par la formule.

CONCLUSION

Entre 23 et 27 jours de vie, le niveau d'anticorps est au plus bas avec un niveau minimal atteint à 27 jours. Un encadrement plus rapproché des dates de prélèvement avec un prélèvement à 25 jours de vie aurait été d'intérêt pour mieux préciser l'atteinte du

titre moyen le plus bas. Une décroissance plus rapide que précédemment décrite a également été publiée en Allemagne sur des dindes souche « lourde » de performance de croissance [2]. Une cinétique individuelle aurait permis d'affiner le modèle de régression. La détermination de l'âge auquel le taux d'anticorps est au plus bas permet de mieux positionner la date de vaccination EH. En effet, ce virus étant endémique en élevage de dindes, l'immunisation active doit pouvoir débuter au plus tôt, dès que le niveau d'anticorps maternels est au plus bas. En conséquence, la recommandation de l'âge à la vaccination doit se superposer à l'âge auquel le niveau le plus bas est atteint. La stratégie de contrôle de l'entérite hémorragique repose en effet sur la vaccination à âge cible, combinée à des mesures de biosécurité de nettoyage désinfection.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Siadénovirus (entérite hémorragique), Eregae et al., Manuel de pathologie aviaire, p185
[2] Serological observations on the decline of maternal derived antibodies against HE in modern turkey lines under field conditions, Düngelhoef et al, Congrès Hafez, 2016
[3] Impact of field viral circulation on turkey performances in France, Perreul et al., PS23-01, WVPA, 2017

Figure 1 : Evolution des titres sérologiques individuels selon l'âge

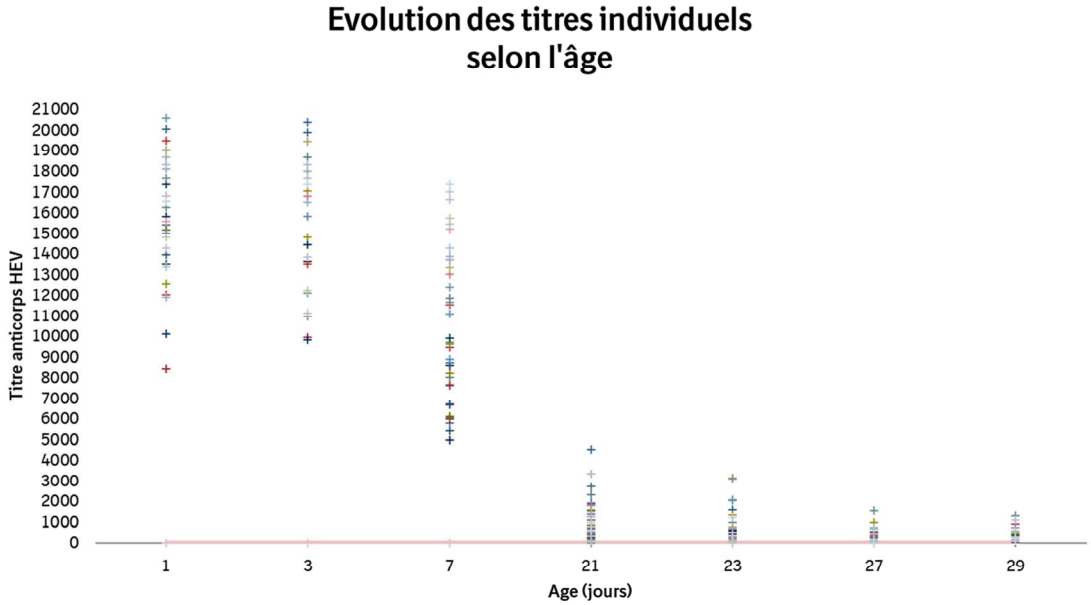


Figure 2 : Evolution des classes de titres selon les âges

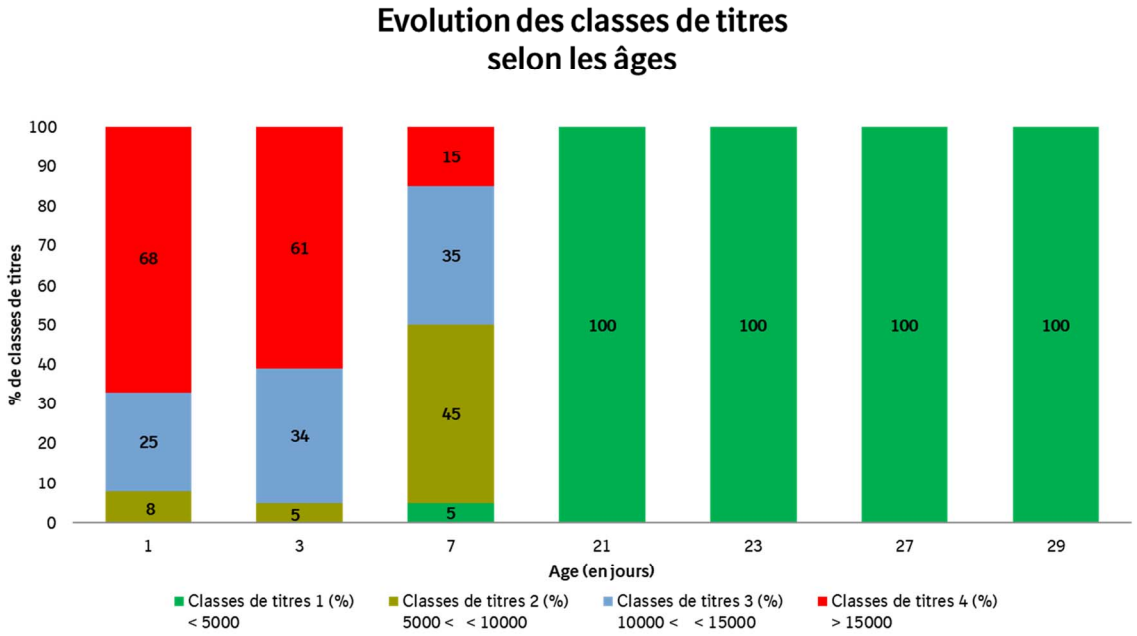
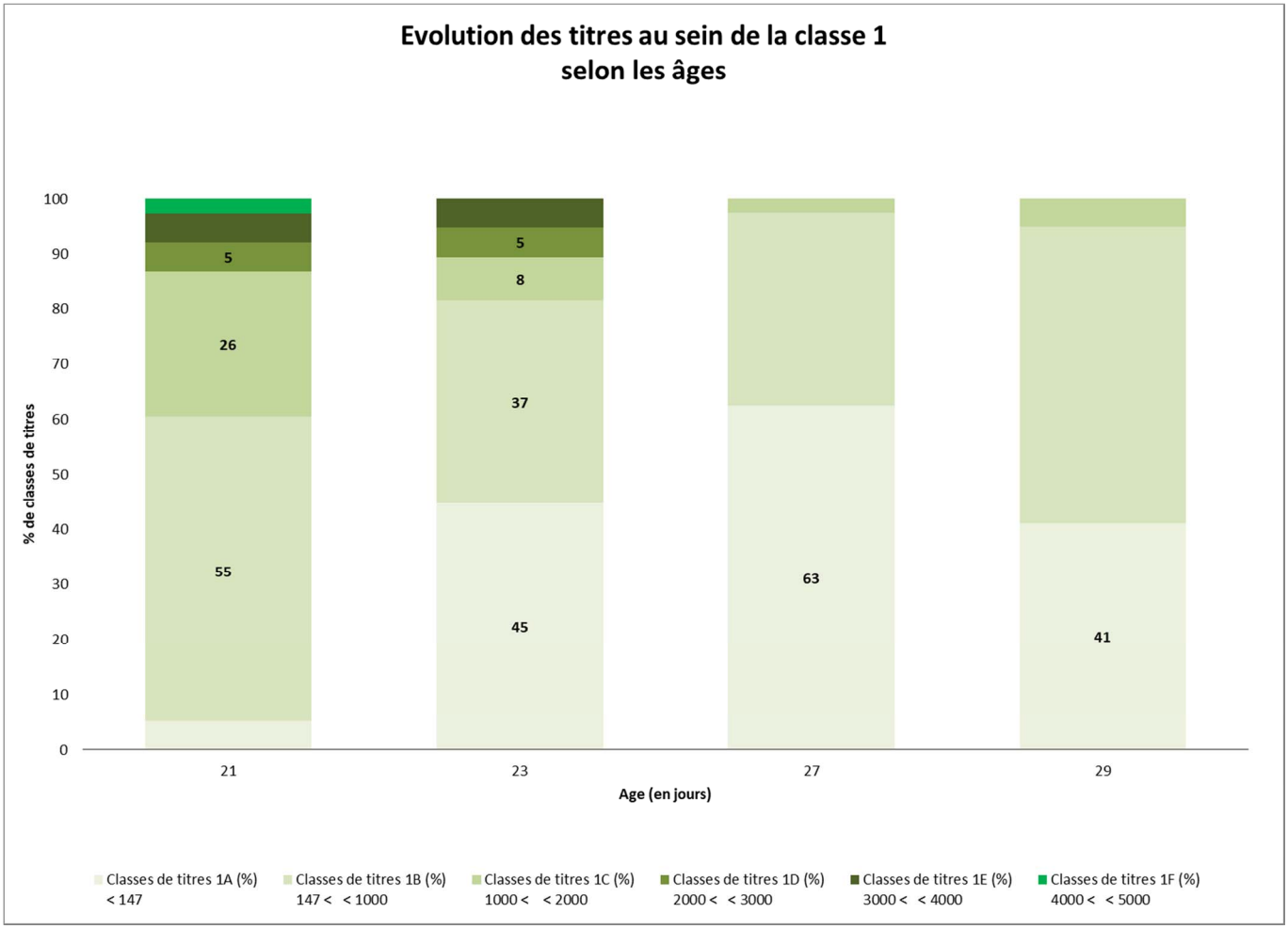


Figure 3 : Evolution des classes de titres au sein de la classe1, selon les âges



MALADIE DE GUMBORO : IMPACT DU PATHOTYPE VIRAL SUR LE PROFIL LEUCOCYTAIRE SANGUIN

Molinet Annonciade[1], Céline Courtillon[2], Michel Amelot[1], Alassane Keita[1], Béatrice Grasland[1], Nicolas Eterradossi[1], Sébastien Soubies[1]

[1]Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - 41 rue de Beaucemaine -22440 PLOUFRAGAN
annonciade.molinet@anses.fr

RÉSUMÉ

Le virus de la bursite infectieuse aviaire (IBDV), agent causal de la maladie de Gumboro, est un virus immunodépresseur répandu mondialement. Il infecte les jeunes poulets (*Gallus gallus*) et présente un tropisme pour les lymphocytes B (LB) produits dans la bourse de Fabricius (BdF). L'infection, potentiellement mortelle, induit une immunodépression chez les survivants. Les IBDV sont classés, selon la mortalité et l'immunodépression induites, en 4 pathotypes : vaccinal (non pathogène), immunodépresseur strict, virulent classique, hypervirulent. Aucun marqueur viral prédictif du pathotype n'a encore été identifié, et son évaluation requiert des protocoles d'expérimentations *in vivo* souvent lourds. L'objectif de cette étude était de mettre en évidence des différences liées aux pathotypes viraux dans des paramètres physiologiques de l'hôte facilement mesurables. Pour cela, des poulets exempts d'organismes pathogènes spécifiés ont été inoculés avec une même dose infectieuse de souches d'IBDV hypervirulentes, virulente classique, immunodépressives strictes ou vaccinales. Un suivi clinique quotidien des animaux a ensuite été réalisé. A 2 et 4 jours post-infection (jpi) la charge virale infectieuse dans la Bdf a été mesurée par titrage infectieux et une numération de formule sanguine (NFS) (quantifiant LB, lymphocytes T (LT), monocytes, thrombocytes et érythrocytes) a été réalisée. L'évolution clinique des animaux a été cohérente avec le pathotype des virus employés. La charge infectieuse dans la bourse i) était plus importante à 2 jpi qu'à 4 jpi, ii) n'était que partiellement corrélée à la pathogénicité. Les NFS ont, quant à elles, révélé : i) une quasi-disparition des LB à 2 et 4 jpi pour tous les virus, ii) une diminution à 2 jpi de la concentration en LT d'autant plus marquée que la pathogénicité est importante, iii) à 4 jpi, une remontée de cette valeur, devenue supérieure à celle des témoins pour les virus immunodépresseurs stricts, iv) une thrombocytopénie importante à 2 et 4 jpi pour les virus hypervirulents et le virus classique. En conclusion, l'évolution de la concentration sanguine de certaines populations cellulaires observées ici dégage de nouvelles pistes de réflexion quant aux différences dans la physiopathologie liée au pathotype viral.

ABSTRACT

Gumboro disease: white blood cells concentration modifications associated with viral pathotype

Infectious bursal disease virus (IBDV), the etiological agent of Gumboro Disease, is a worldwide spread immunosuppressive virus. It infects young chicks (*Gallus gallus*) and targets B cells produced in the bursa of Fabricius. That potentially deadly infection induces immunosuppression in the survivors. IBDV are classified into 4 pathotypes depending on the mortality and immunosuppression they induce: vaccinal (non pathogenic), strictly immunosuppressive, classical virulent and very virulent. No pathotype specific predictive marker has yet been identified and the current way to assess this viral characteristic relies on animal experiment. This study purpose is to highlight pathotype specific, easily measurable differences in viral behavior and host response to the infection. For this purpose, specific-pathogen-free (SPF) chicken were inoculated with the same infectious dose of IBDV of very virulent, classical, strictly immunosuppressive or vaccinal strains. A daily clinical monitoring was performed. At 2 and 4 days post infection (dpi), the bursal viral load was measured using infectious titration and total blood cell count (quantifying B cells, T cells, monocytes, thrombocytes and erythrocytes) was carried-out. The clinical outcome of animals was consistent with the pathotype of the used strains. The viral load was i) higher at 2 than 4 dpi, ii) was partially correlated with the pathogenicity. The total blood cell count revealed : i) a near disappearance of B cells for pathogenic strains, ii) a decrease of T cells concentration at 2 dpi proportional to pathogenicity, iii) at 4 dpi, an increase of T cells concentration above the mock groups value for the strictly immunosuppressive strains, iv) a severe thrombocytopenia for very virulent and classical virulent strains. To conclude, different white blood cells concentration modifications induced by different pathotypes have been observed and provide new insights into the differences in physiopathology related to the viral pathotype.

INTRODUCTION

Le virus de la bursite infectieuse aviaire (IBDV), agent causal de la maladie de Gumboro (Cosgrove, 1962), est un virus immunodépresseur répandu mondialement. Il infecte les jeunes poulets (*Gallus gallus*) et présente un tropisme pour les lymphocytes B (LB) produits dans la bourse de Fabricius (BdF). L'infection, potentiellement mortelle, induit une immunodépression chez les survivants. Les IBDV sont classés, selon la mortalité et l'immunodépression induites, en 4 pathotypes : vaccinal, immunodépresseur strict (variant), virulent classique et hypervirulent. Aucun marqueur viral prédictif du pathotype n'a encore été identifié. A l'heure actuelle, le seul moyen de déterminer le pathotype viral d'une souche d'IBDV est d'estimer lors d'une expérimentation animale (Saif et al 2020) le pourcentage de mortalité et les signes qu'elle induit afin de comparer ces résultats à ceux obtenus avec une souche de référence telles que la classique F52/70 (Bygrave et al, 1970) et l'hypervirulente 89163 (Eterradossi et al, 1992).

C'est pourquoi on s'est attaché ici à étudier si des différences de numérations de formules sanguines pouvaient être détectées chez l'hôte en lien avec l'infection par un pathotype viral spécifique, ou en lien avec des différences de niveau de réplication virale desdits pathotypes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Trois expérimentations animales nommées respectivement 1, 2 et 3 ont été réalisées. Dans les trois cas nous avons inoculé des poulets White Leghorn exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) avec une même dose infectieuse de différentes souches d'IBDV (tableau 1) ou bien avec du tampon pour les animaux témoins. Lors des expérimentations 2 et 3, à 2 et 4 jours post-infection (jpi), la moitié du troupeau a subi un prélèvement de sang sur EDTA puis a été euthanasiée pour collecter leur BdF afin de déterminer le profil leucocytaire et la charge virale infectieuse dans la Bdf respectivement.
Lors de l'expérimentation 1, seul le pourcentage de mortalité induit par l'infection et le score clinique (SC) ont été étudiés. Le SC est déterminé sur la base d'un index allant de 0 à 3 (note finale motivant l'euthanasie de l'animal) (Le Nouen, 2006).

Ces protocoles ont été approuvés par le comité éthique ANSES (C2EA-016 / ComEth ANSES / ENVA / UPEC) et autorisé par le Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (Numéro de permis : APAFiS#4945-20 16041316546318 v6).

1.2. Extraction et titrage viral à partir de BdF infectées

Les virus ont été extraits des BdF comme décrit précédemment (Cubas-Gaona et al, 2021). Les suspensions virales ont été titrées biologiquement sur cultures primaires de LB de poulets EOPS par immunohistochimie comme décrit précédemment (Soubies et al, 2018).

1.3. Numération de formule sanguine

La numération de formule sanguine sur poulet a été réalisée dans les 4 heures suivant la prise de sang et conformément au protocole de Seliger et al (2012). Brièvement, le sang a été mélangé à un pool d'anticorps marquant chacun une population cellulaire d'intérêt : leucocytes, monocytes/thrombocytes, lymphocytes T (LT) gamma-delta, LT $CD4^+$, LT $CD8^+$, monocytes et LB. Les échantillons ont été ensuite directement analysés sans rinçage avec un cytomètre en flux FC500 MPL (Beckman Coulter). Les concentrations cellulaires inférieures au seuil de détection ont été définies arbitrairement comme égales à 0,5 cellule/µL. Par soucis de concision seuls les résultats concernant les LB, LT et thrombocytes sont présentés.

1.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel R (version 4.0.3). Les différences de pourcentage de mortalité ont été analysées à l'aide du test exact de Fisher. Les autres paramètres ont été analysés à l'aide du test de Kruskal-Wallis (sur les figures, les groupes associés à des lettres différentes sont statistiquement différents, p value <0.05).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Mortalité et signes cliniques

Comme présenté sur la figure 1, les animaux témoins n'ont pas développé de signes cliniques. Chez les groupes infectés, les signes, apparus dès 1 jpi, ont atteint un pic à 3 jpi, en moyenne aux alentours de 0,5 pour les virus immunosuppresseurs stricts, de 2 pour le classique et au-dessus de 2 pour les virus hypervirulents. Le score clinique des survivants est revenu à zéro à partir de 10 jpi.

Aucune mortalité n'a été observée chez les groupes inoculés avec les virus strictement immunodépresseurs. Le groupe classique a présenté 40 % de mortalité, ce qui est significativement plus faible que ce qui a été observé chez le groupe hv2 mais pas hv1. Le pourcentage de mortalité (48 %) induit par le virus hv1 était significativement plus

faible que celui (80 %) induit par hv2. On retrouve bien ici les caractéristiques de mortalité et de clinique connues pour les pathotypes étudiés.

2.2. Réplication virale dans la bourse

Aucun virus n'a été détecté dans les BdF des animaux témoins. Comme présenté dans la figure 2, un titre viral généralement plus élevé a été observé dans la bourse à 2 jpi (avant le pic de signes cliniques) qu'à 4 jpi. Les différences de titres entre souches ont été les plus notables à 2 jpi. Ainsi, la souche vaccinale i présentait un titre médian (5,2 $\log_{10}DICT_{50}$/g) environ 1000 fois inférieur aux virus cla ou I+. Les souches hv et les virus immunosuppresseurs stricts présentaient un titre médian environ 10 fois supérieur au virus cla. Ces différences sont en partie cohérentes avec la clinique respective des virus i, cla et hv. En revanche, des différences ne suffisent pas à expliquer, à elles seules, les différences de clinique puisque, par exemple, les virus immunodépresseurs stricts, qui n'induisent pas de signes cliniques aigus, présentent des titres dans la bourse comparables à ceux des virus hypervirulents.

2.3. Influence du pathotype viral sur l'évolution des populations leucocytaires

2.3.1 Lymphocytes B (LB)

Comme visible sur la figure 3, une quasi-disparition des LB à 2 et 4 jpi est observée pour tous les virus (sauf les vaccinaux) par rapport aux témoins. Cette observation est cohérente avec le fait que l'IBDV cible principalement les LB produits dans la bourse de Fabricius.

2.3.2 Lymphocytes T (LT)

Comme visible sur la figure 3, à 2 jpi une concentration médiane en LT de plus de 7000 cellules/µL a été observée chez les groupes témoins et vaccinaux. Chez les autres groupes cette valeur ne dépassait pas les 3000 cellules/µL. A 4 jpi, les concentrations médianes en LT des groupes vaccinaux et témoins étaient similaires, tandis que celles des groupes inoculés avec les virus immunodépresseurs stricts leur étaient significativement supérieures (17000 cellules/µL). Chez les autres groupes, une augmentation de ce paramètre, comparé aux valeurs de 2 jpi, a été observée, ce dernier paramètre restant cependant inférieur aux valeurs des témoins. On pourrait expliquer cette diminution globale de la concentration en LT par leur rétention dans les organes lymphoïdes secondaires ou leur recrutement au niveau la BdF inflammée.

2.3.3. Thrombocytes

Comme visible sur la figure 3, à 2 jpi, une concentration similaire en thrombocytes a été observée chez les groupes vaccinaux, strictement immunosuppresseurs et leurs témoins respectifs. Chez les groupes infectés par les virus pathogènes une légère diminution de cette valeur a été observée. A 4 jpi, on a observé les mêmes tendances avec cette fois-ci une thrombocytopénie plus sévère qu'à 2 jpi (réduction d'un facteur 10). Les thrombocytes participent à la cascade de la coagulation sanguine. Ces données sont donc cohérentes avec les hémorragies musculaires observées lors des autopsies chez les animaux infectés par des virus pathogènes.

CONCLUSION

En conclusion, des différences entre pathotypes viraux ont été observées en termes de réplication virale et d'influence sur les concentrations cellulaires sanguines. Ces éléments dégagent de nouvelles pistes de réflexion quant-aux différences de physiopathologie liées au pathotype viral.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bygrave A, Faragher JT, 1970. Vet Record, (86),758-759.
Cosgrove A,1962. Avian Dis (6),385.
Cubas-Gaona LL, Flageul A, 2021. Front Microbiol (12), 678563.
Eterradossi N, Picault JP, 1992. Zentralbl Veterinarmed B (39), 683-91.
Le Nouen C, Rivallan G, 2006. J Gen Virol (87), 209-16.
Saif YM, Fletcher O, 2020. Avian Dis (64), 241-242.
Seliger C, Schaerer B, 2012. Vet Immunol Immunopathol (145), 86-99.
Soubies SM, Courtillon C, 2018. Avian Pathol (47), 179-188.

Tableau 1. Virus étudiés

Souche (Code dans l'étude)	Pathotype viral	Génotype(1)	Expérimentation (1, 2, 3)
Poulvac Bursine 2 (Vaccin i+)	Souche vaccinale intermédiaire	A1aB1	2
Nobilis Gumboro 228 E (Vaccin i)	Souche vaccinale intermédiaire +	A1aB1	2
80Ga (i1)	Immunosuppresseur strict	A4B1	1, 3
VarE (i2)	Immunosuppresseur strict	A2B1	1, 3
F52/70 (Cla)	Classique	A1aB1	1, 3
89163 (Hv 1)	Hypervirulent	A3B2	1, 3
HLJ0504 (Hv 2)	Hypervirulent	A3B3	1, 3

Figure 1. Evolution du score clinique lors de l'expérience 1

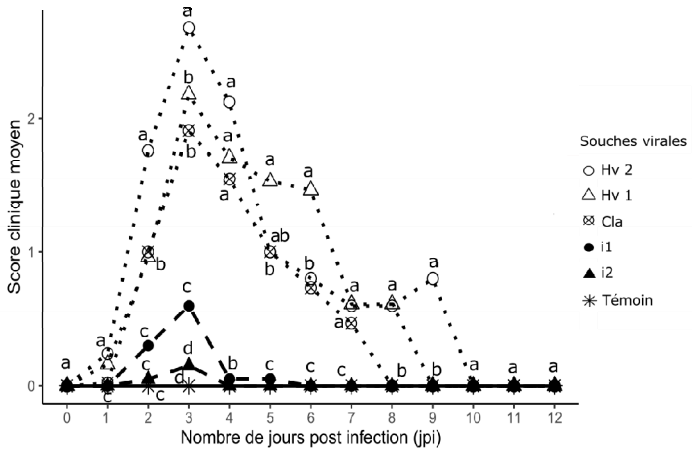


Figure 2. Evolution de la quantité de virus dans la bourse

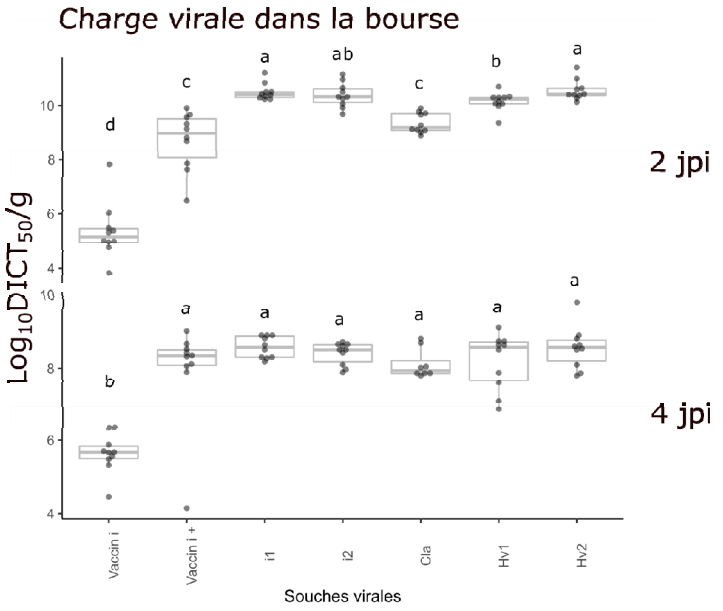
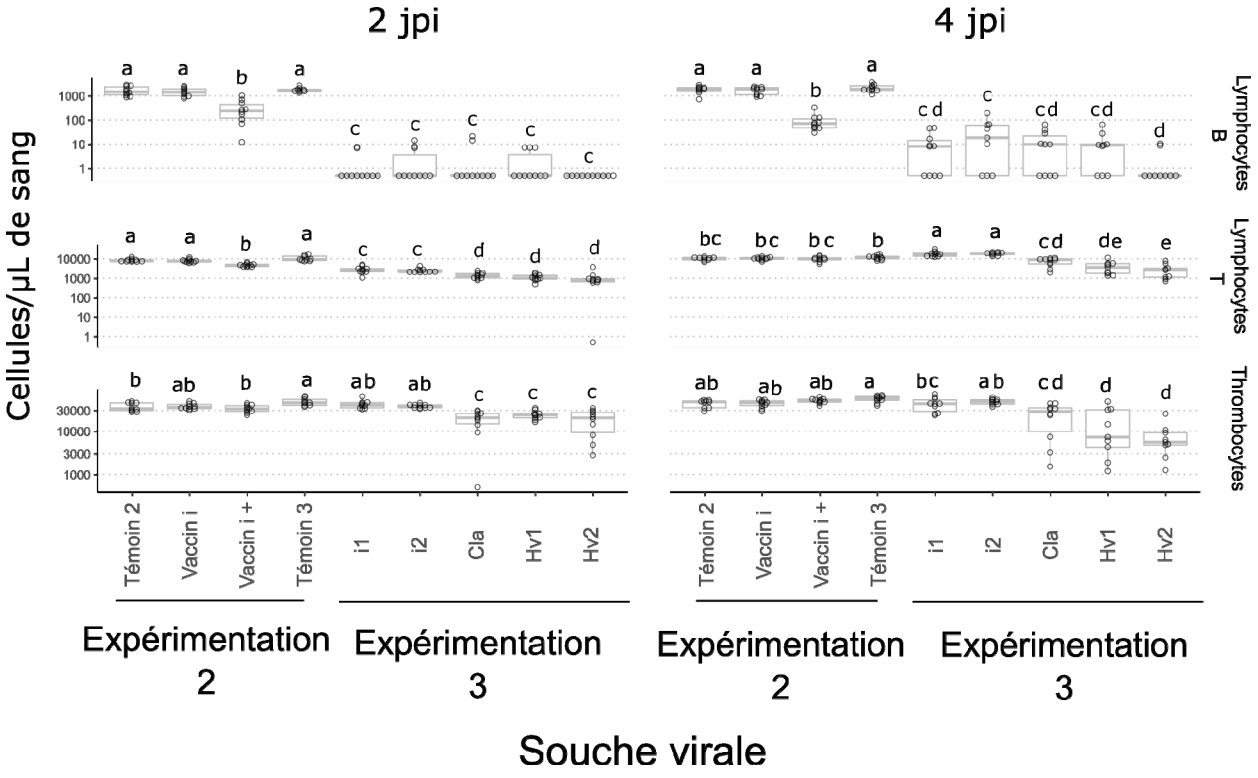


Figure 3. Impact du pathotype viral sur le profil leucocytaire



EFFETS COMBINES DE LA GENETIQUE ET DU MICROBIOTE INTESTINAL SUR LA REPONSE VACCINALE CHEZ LA POULE PONDEUSE.

Lecoeur Alexandre[1], Blanc Fany[1], Gourichon David[2], Bruneau Nicolas[1], Burlot Thierry[3], Calenge Fanny[1], Pinard-van der Laan Marie-Hélène[1]

[1]Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350 Jouy-en-Josas, France,
[2]INRAE, PEAT, Nouzilly, France,
[3]NOVOGEN, 5 rue des compagnons, Secteur du Vau Ballier, 22960 Plédran, France
alexandre.lecoeur@inrae.fr

RÉSUMÉ

La plupart des vaccins présentent une efficacité variable. Les variations génétiques de l'hôte et celles du microbiote intestinal en sont deux des raisons probables. Etudier leurs effets combinés sur la réponse vaccinale est notre objectif. Cette étude a reposé sur 4 lignées de poule pondeuse : 2 lignées expérimentales différant pour le niveau de leur réponse vaccinale, et 2 lignées commerciales éloignées génétiquement. Une forte perturbation du microbiote intestinal a été induite par un cocktail d'antibiotiques donné à deux temps différents (de 1 à 3 jours d'âge ou pendant 3 jours avant vaccination). La réponse vaccinale a été suivie par des tests d'inhibition de l'hémagglutination et la composition du microbiote caecal a été évaluée par analyse de séquences amplifiées du gène de l'ARNr 16S. Les quatre lignées ont présenté des niveaux de réponse vaccinale différents 15, 19 et 21 jours après vaccination. Nous avons logiquement observé une réponse plus élevée de la lignée sélectionnée génétiquement pour ce caractère, intermédiaire pour la lignée témoin non sélectionnée et faible pour les deux lignées commerciales. Les effets des antibiotiques sur la réponse vaccinale ont varié selon la lignée, avec une dynamique différente selon le temps. Ainsi, une lignée commerciale a montré une réponse plus faible que les autres dans le groupe ayant reçu les antibiotiques juste avant vaccination. Enfin, la prise d'antibiotiques a eu un effet sur la composition du microbiote intestinal caecal au jour 43 (fin de l'expérience) pour chaque lignée. Le microbiote des animaux traités est moins riche et moins diversifié, avec un microbiote composé de quelques VSA (Variant de séquence d'amplicon) dominants d'abondances extrêmement élevées. De plus, nous avons identifié un effet de groupe dans presque tous les cas. Ces résultats montrent que la prise d'antibiotiques a modifié le microbiote des quatre lignées jusqu'à 20 jours, ou 40 jours après le traitement. Cette expérience confirme l'effet de la prise d'antibiotiques et de la lignée génétique sur le niveau de réponse vaccinale et la composition du microbiote dans les lignées étudiées. Le rôle du microbiote intestinal dans la variation de la réponse vaccinale reste à approfondir.

ABSTRACT

Combined effects of genetics and gut microbiota on vaccine response in laying hens.

Most vaccines vary in their effectiveness. Genetic variations in the host and in the gut microbiota are two of the likely reasons. Our main objective was to study their combined effects on vaccine response. This study was based on 4 lines of laying hens: 2 experimental lines differing in their vaccine response levels, and 2 genetically distant commercial lines. A strong disruption of the gut microbiota was induced by a cocktail of antibiotics given at two different times (from 1 to 3 days of age; or during 3 days before vaccination). Vaccine response was monitored by hemagglutination inhibition assays and the composition of the cecal microbiota was assessed by analysis of amplified 16S rRNA gene sequences. The four lines showed different levels of vaccine response 15, 19 and 21 days after vaccination. We logically observed a higher response of the line genetically selected for this trait, intermediate for the unselected control line and low for the two commercial lines. The effects of antibiotics on the vaccine response varied by line, with different dynamics over time. For example, one commercial line showed a weaker response than the others in the group that received antibiotics just before vaccination. Finally, antibiotic intake has an effect on the composition of the caecal gut microbiota at day 43 (end of the experiment) for each line. The microbiota of treated animals is less rich and diverse, with a microbiota composed of a few dominant ASV (Amplicon Sequence Variants) of extremely high abundance. Moreover, we identified by a PERMANOVA analysis a group effect in almost all cases. These results show that antibiotics altered the microbiota of the four lines up to 20 days, or 40 days after treatment. This experiment confirms the effect of both antibiotics' intake and genetic lineage on the level of vaccine response and on the caecal microbiota composition. The role of caecal microbiota in the variation of the vaccine response levels observed remains to be further explored

INTRODUCTION

La vaccination est une des stratégies les plus efficaces pour la prévention des maladies infectieuses dans les élevages avicoles. Cependant, la plupart des vaccins présentent une efficacité variable. Les variations génétiques de l'hôte et celles du microbiote intestinal sont deux des probables facteurs de variation de cette efficacité (Ciabattini et al, 2019 ; Zimmerman et al., 2018). Nous avons démontré le rôle de la génétique de l'hôte dans les variations de réponse vaccinale en réalisant avec succès la sélection génétique de poules pondeuse White Leghorn présentant une plus forte réponse vaccinale contre le virus de la maladie de Newcastle (Pinard - van der Laan, 2002) : la lignée ND3, sélectionnée depuis maintenant plus de 25 ans ; et la lignée non sélectionnée nommée « Témoin » ou « TEM ». Par ailleurs, le microbiote intestinal, chez la poule comme chez tous les animaux d'élevage, interagit étroitement avec l'immunité de l'hôte (Broom et al., 2018), si bien que l'on peut faire l'hypothèse qu'il pourrait avoir un effet sur la réponse vaccinale. Le rôle du microbiote intestinal dans la réponse vaccinale est moins connu, mais quelques études démontrent son influence (Valdez et al., 2014 ; Borey et al., 2021).

La présente étude a pour objectif l'étude de l'effet à la fois du fonds génétique, et du microbiote intestinal sur la réponse vaccinale. Nous avons comparé les réponses de 4 lignées de poules pondeuses : les 2 lignées expérimentales **ND3** et **TEM** et 2 lignées commerciales éloignées génétiquement l'une de l'autre, de la société Novogen, l'une issue d'une lignée Rhode Island (**RIR**) et l'autre d'une lignée White Leghorn (**LEG**).

Afin d'étudier l'impact de la composition du microbiote intestinal sur la réponse vaccinale, nous avons modifié sa composition via l'ingestion d'un cocktail d'antibiotiques avant la vaccination.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

L'étude inclut 204 animaux des 4 lignées ND3, TEM, RIR et LEG. Tous les animaux ont éclos au sein du même couvoir de l'unité PEAT (Nouzilly) puis ont été distribués en 13 lots différents (Figure 1).
Le microbiote intestinal a été perturbé par un cocktail d'antibiotiques composé de 3 antibiotiques de différentes familles avec différents modes d'action afin de créer une perturbation globale du microbiote (l'amoxicilline, la streptomycine et le métronidazole).
Pour chaque lignée, les animaux ont donc été répartis en :

- un groupe de 24 individus vaccinés et non traités aux antibiotiques (Groupe **WA**),
- un groupe de 12 animaux vaccinés et traités aux antibiotiques de J1 a J3 (Groupe **A1**),
- un groupe de 12 animaux vaccinés et traités aux antibiotiques les trois jours précédant la vaccination au virus de Newcastle (NDV) (Groupe **A19).**

Les animaux ont été vaccinés à 3 semaines (J22) contre la maladie de Newcastle (Nobilis Bi Ma5-Clone 30) par goutte dans l'œil.
En plus de ces 12 groupes, un groupe de 12 animaux de la lignée TEM n'a été ni vacciné ni traité pour servir de groupe contrôle (Groupe **CTR**). Cette répartition des animaux est représentée schématiquement dans la figure 1.
Les animaux ont été élevés en cages de 12 poules, et mis à mort à J42 par électronarcose puis dislocation cervicale. Les animaux ont été pesés avant la vaccination (J22) et avant la mise à mort (J42). Des prises de sang ont été effectuées à J36, J40 et J42. Le microbiote caecal a été collecté sur chaque animal post-mortem. Les animaux ont été élevés et sacrifiés conformément à la règlementation (autorisation APAFIS#29749-2021021018217492).

1.2. Composition du microbiote intestinal

Le contenu caecal récupéré à J42 a été congelé immédiatement dans l'azote liquide. Les ADN de ces échantillons ont été extraits par la plateforme @bridge (INRAE Jouy-en-Josas). Le séquençage a été réalisé par un séquenceur Illumina Miseq 2*250 pb, à partir d'amplicons de la région V3-V4 du gène de l'ARNr 16S obtenus avec les primers Forward : ACGGRAGGCAGCAG et Reverse : TACCAGGGTATCTAATCCT.
Les séquences ont été analysées grâce au package R Dada2. La table d'ASV (Amplicon Sequence Variant) obtenue a été analysée avec les packages phyloseq et Deseq2.

1.2. Suivi de la réponse à la vaccination

La réponse vaccinale a été mesurée par un test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) qui mesure les anticorps contre les paramyxovirus aviaires de type 1 [APMV1 virus de la maladie de Newcastle]. Le résultat est exprimé par un titre IHA correspondant à un nombre compris entre 0 et 12 : 0 correspondant à une absence totale d'hémagglutination et 1 à 12 (X) correspondant à la dilution $1 \div (2^X)$ la plus faible pour laquelle nous avons observé une hémagglutination.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Evolution du poids

La figure 2 représente la prise de poids entre J22 et J42. Toutes les lignées différaient significativement des autres pour leur poids. La lignée RIR a montré une croissance plus rapide que les trois autres (multiplication de 2.6 du poids vs 2.3). Les traitements antibiotiques n'ont entrainé aucune surmortalité dans les 4 lignées, et aucun problème

sanitaire n'a été observé. Cependant, les traitements ont eu un effet sur la croissance des animaux, différent entre les lignées. Ainsi pour la lignée RIR, le groupe A1 a eu une croissance tendanciellement plus importante que A19 (p.adj < 0.1). Pour la lignée TEM, le groupe A19 a eu une croissance significativement plus rapide que A1, WA et CTR (p.adj < 0.05).

2.2. Réponse Vaccinale

La figure 3 représente le niveau de réponse vaccinale déterminé par IHA à J42 pour chaque groupe et chaque lignée. ND3 présente la réponse la plus élevée, ce qui est attendu puisque que cette lignée a été sélectionnée sur ce paramètre. La lignée TEM présente un niveau de réponse intermédiaire, tandis que les deux lignées commerciales ont des niveaux de réponse plus faibles que les deux lignées expérimentales, et équivalents entre eux. Cette répartition des lignées s'est avérée similaire aux trois dates prises en compte (J36, J40 et J42 ; données non montrées).

La comparaison des groupes d'animaux pour chaque lignée montre un effet de la prise d'antibiotiques sur la réponse vaccinale, variant en fonction de la lignée. Seule la lignée LEG montre un effet significatif de la prise d'antibiotique sur le niveau de réponse vaccinale, dans les deux lots traités. Le groupe A19 présente une réponse vaccinale plus faible que les deux autres groupes. Cette différence entre groupes, légère à J36, s'accentue au fil du temps avec un pic de réponse vaccinale 3 semaines après injection. Pour la lignée RIR, aucune différence significative entre les 3 groupes n'est observée, quelle que soit la date, probablement du fait d'une forte variabilité du groupe A1. Les niveaux de réponse des lignées ND3 et TEM sont stables entre les groupes. La variabilité de la réponse est très faible et diminue avec le temps. La lignée ND3 a été sélectionnée depuis plusieurs dizaines de générations pour une forte réponse vaccinale, ce qui pourrait rendre une perturbation de cette caractéristique plus difficile.

2.3. Microbiote Intestinal

Nous avons obtenu un total de 12,37 millions de séquences brutes au total, soit une moyenne de 49 700 séquences par échantillon. En sortie de Dada2, la table de taxonomie des 204 individus comportait 5 854 649 séquences, avec en moyennes 28 283 séquences par échantillon, et 9 609 ASV au total. Six individus présentant trop peu de séquences ont été éliminés des analyses (moins de 8 500 séquences). Ces 6 individus étaient répartis dans différentes lignées et groupes : 1 RIR A19, 1 LEG A1, 2 LEG A19, 1 TEM WA,1 TEM CTR. Nous avons normalisé le jeu de données à 15 928 séquences par individu.

Les microbiotes caecaux des 4 lignées sont très largement dominés par le Phylum *Firmicutes* (entre 95 et 99% des séquences), suivi de *Bacteroidota* (entre 0.1 et 3.3%), *Actinobacteriota* (entre 0.19 et 0.38%), *Proteobacteria* (entre 0.1 et 0.43%), ce qui est conforme à ce qui est observé dans la littérature. On observe également quelques séquences du phylum *Desulfobacterota*. La famille la plus représentée est *Ruminococcaceae* (Entre 46 et 66%), suivie de *Lachnospiraceae* (Entre 8 et 14 %), *Oscillospiraceae* (Entre 4.5 et 7 %), *Rikenellaceae* (Entre 0.1 et 3.3%).

L'analyse de différents critères d'alpha diversité (Richness, Chao1, Shannon et Simpson) décrivant les microbiotes des quatre lignées (Figure 4) montre l'existence de différences de structure du microbiote entre lignées. Ainsi, il n'y a aucune différence significative entre les lignées pour les critères Richness ou Chao1, ce qui signifie que les microbiotes de ces lignées possèdent un nombre équivalent d'espèces bactériennes. En revanche, les indices de Shannon et de Simpson montrent des différences importantes entre lignées. Ils sont plus élevés dans la lignée RIR comparativement à ND3 et LEG, et moins élevés dans la lignée ND3 comparativement aux lignées RIR et TEM. Cela signifie que la lignée ND3 possède un microbiote avec une abondance par ASV la plus homogène alors que la lignée RIR possède la plus déséquilibrée.

Nous avons également comparé les lignées et les groupes pour 4 indices décrivant la bêta-diversité des microbiotes : Bray-Curtis, Jaccard, Unifrac et Weighted Unifrac (Figure 5). Nous observons pour les 4 indices un effet lignée, un effet groupe ainsi qu'une interaction lignée x groupe significatifs. Ceci confirme l'impact important de la lignée, donc du fonds génétique, sur la composition du microbiote caecal. Par ailleurs nous montrons ainsi que notre modèle de perturbation du microbiote par le traitement antibiotique (effet groupe) est efficace pour toutes les lignées étudiées et pourra être employé pour d'autres études.

CONCLUSION

En conclusion, cette étude nous a permis de valider notre modèle de perturbation du microbiote par un traitement antibiotique. Ce dernier a en effet induit une perturbation du microbiote relativement durable sans générer de problème sanitaire. La première application de ce modèle nous a permis de mettre en évidence un lien possible, mais qui reste à confirmer, entre la composition du microbiote caecal et la réponse vaccinale chez au moins une lignée de poule pondeuse (LEG), puisque la perturbation de la composition du microbiote causée par l'ingestion d'antibiotiques est associée avec un changement du niveau de réponse vaccinale. Nous observons enfin que l'ampleur et la dynamique d'évolution de la réponse vaccinale semblent différer selon la lignée génétique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Borey, M., Blanc, F., Lemonnier, G., Leplat, J.-J., Jardet, D., Rossignol, M.-N., ...Rogel-Gaillard, C. (2021). Links between fecal microbiota and the response to vaccination against influenza A virus in pigs. npj Vaccines, 6.

Broom, L. J., & Kogut, M. H. (2018). The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens. Vet. Immunol. Immunopathol., 204, 44–51.

Ciabattini, A., Olivieri, R., Lazzeri, E., & Medaglini, D. (2019). Role of the Microbiota in the Modulation of Vaccine Immune Responses. Front. Microbiol.,

Pinard – van der Laan, M.-H. (2002). Immune modulation: the genetic approach. Vet. Immunol. Immunopathol.

Valdez, Y., Brown, E. M., & Finlay, B. B. (2014). Influence of the microbiota on vaccine effectiveness. Trends Immunol.,25113637.

Zimmermann, P., & Curtis, N. (2018). The influence of the intestinal microbiome on vaccine responses. Vaccine, 36(30), 4433□4439.

Figure 1. Schéma de répartition des groupes

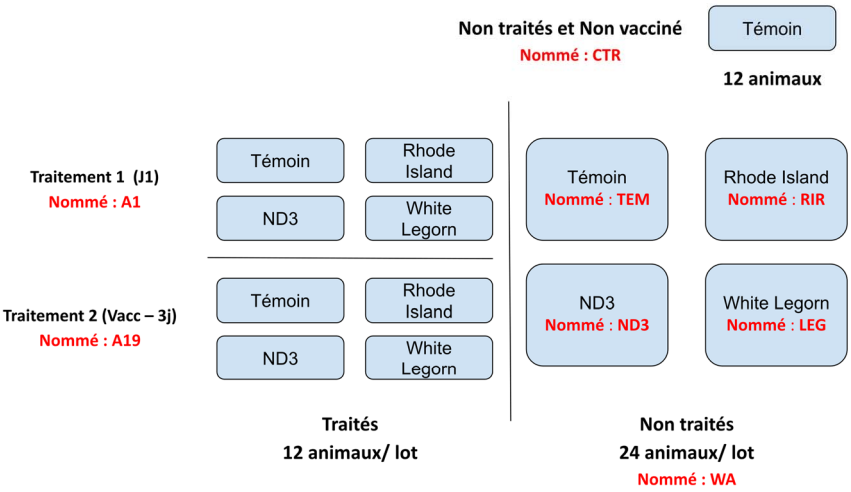


Figure 2. Comparaison des prises de poids (rapport D42 ÷ D22) des différents groupes pour chaque lignée (ns = p > 0.05 ; * = p < 0.05)

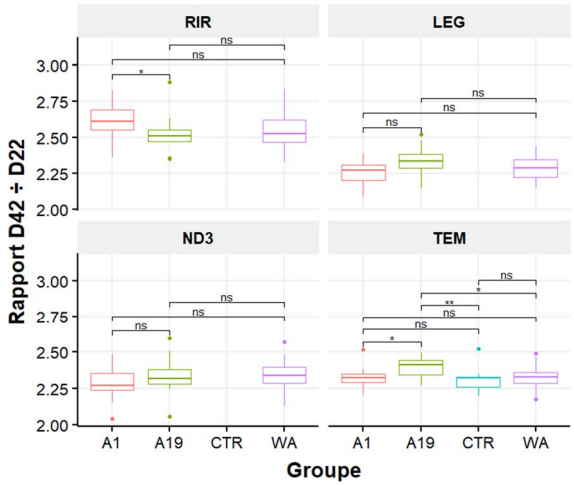


Figure 3. Comparaison des niveaux de réponse vaccinale des différents groupes pour chaque lignée. (ns = p > 0.05 ; * = p < 0.05)

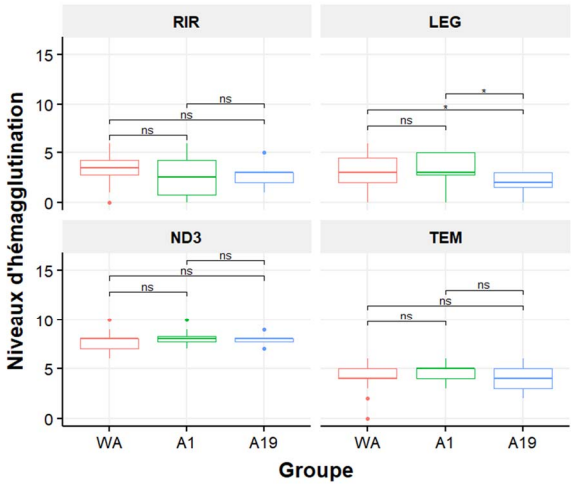


Figure 4. Diversité alpha des 4 lignées (tous groupes confondus) (ns = p > 0.05 ; * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.001)

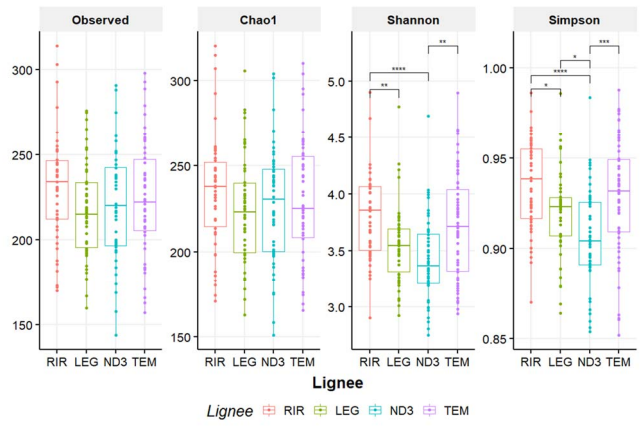
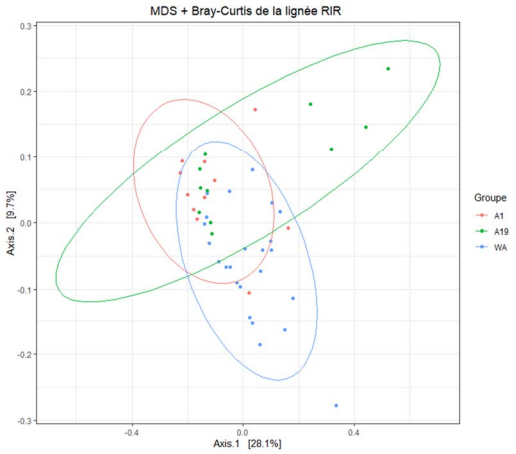


Figure 5. Diversité beta



ETUDE RETROSPECTIVE SUR LA MALADIE DE MAREK EN FRANCE : FOCUS SUR LES FORMES ENCEPHALITIQUES

M. Pinson[a,b,d], M. Crispo[b], O. Albaric[c], B. Sraka[d], C. Facon[d], G. Perreul[e], T. Delquigny[e], S. Lemière[e], C. Belloc[a] et J.-L. Guérin[b]

[a]INRAE, Oniris, BIOEPAR, Route de Gachet, 44300 Nantes, France, [b]Université de Toulouse, ENVT, INRAE, UMR IHAP, 23 chemin des Capelles, 31076 Toulouse, France, [c]Anatomopathologiste indépendant, 625 Chemin Lembeye, 64290 Lasseube, France, [d]Labovet Conseil, Réseau Cristal, 15 rue Christophe Colomb, 85300 Challans, France, [e]Boehringer Ingelheim AH, 29, avenue Tony Garnier, 69007 Lyon, France

jean-luc.guerin@envt.fr

RÉSUMÉ

Le virus de la maladie de Marek reste une préoccupation majeure en élevage de poulet dans le monde. Contrairement aux formes classiques de la maladie (paralysie des pattes, tumeurs viscérales et cutanées), la forme encéphalitique est peu étudiée malgré des descriptions fréquentes en France ces dernières années. Cette étude a pour objectif d'en décrire l'expression clinique et lésionnelle. Les cas sélectionnés ont été enregistrés comme des cas cliniques de maladie de Marek dans la base de données des cabinets vétérinaires aviaires du Réseau Cristal en Pays de la Loire entre 2016 et 2020. Sur les 40 signalements enregistrés, 13 correspondaient à une forme encéphalitique, révélant la fréquence de cette forme particulière. Les cas cliniques étaient surtout décrits sur des poulets à croissance intermédiaire (10/13), non vaccinés contre la maladie de Marek, en fin de lot (principalement entre 6 et 8 semaines d'âge), avec présence dans certains cas d'une augmentation significative de la mortalité. Les signes cliniques nerveux observés (paralysie du cou, tics nerveux et torticolis) étaient associés à des lésions histologiques similaires dans tous les lots concernés, à savoir une infiltration légère à sévère de cellules lymphoïdes dans l'encéphale sous forme de manchons périvasculaires. Par ailleurs, des infiltrations lymphoïdes similaires étaient également fréquemment observées, moins sévères, au niveau des nerfs périphériques et des organes viscéraux, en l'absence d'hypertrophie macroscopique des nerfs ou de tumeur viscérale. Une analyse par immunohistochimie a permis de montrer qu'il s'agit essentiellement de lymphocytes T et de mieux évaluer l'intensité et l'extension des infiltrats. Il apparait donc que la maladie de Marek est toujours une maladie courante en France, et que les formes encéphalitiques, précisées dans cet article, doivent être prises en compte. Elles affectent des poulets dès six semaines d'âge et peuvent avoir un impact significatif sur la santé des animaux atteints. La sensibilisation des vétérinaires avicoles est nécessaire pour mieux détecter cette forme atypique de la maladie de Marek et ainsi évaluer son impact sur la santé et les performances des poulets de chair.

ABSTRACT

Retrospective Study of Marek's Disease in Commercial Broilers in France: Focus on Central Nervous System Syndromes

Marek's disease (MD) remains a major concern for the chicken industry worldwide. Unlike the classical forms of the disease (leg paralysis, visceral and cutaneous tumors), scientific publications focusing on central nervous system (CNS) syndromes appear scarce, despite frequent reports involving French broiler farms during the last few years. We investigated the frequency of CNS syndromes and their clinical-pathological presentation. Selected cases occurred between 2016 and 2020 and originated from farms distributed in the Pays de la Loire. On a total of 40 cases, 13 were characterized by a CNS syndrome. Clinical cases, exhibiting neck paralysis, nervous tics and torticollis, were mostly observed in certified, non-vaccinated broilers (10/13) ranging between 45 and 56 days of age, and were associated with a significant increase of mortality in 4 cases. Clinical signs were consistently associated with moderate to severe lymphocytic infiltration of the CNS. In addition, peripheral nerves and visceral organs were also commonly affected, less severely, and without concurrent identification of nerve enlargement or visceral tumors at necropsy. Immunohistochemistry identified infiltrating lymphocytes as T cells, further characterizing severity and distribution of the lesions observed. In conclusion, MD is still a concern in France. The CNS syndromes described should be considered in commercial broilers starting from 6 weeks of age as they could compromise the health and welfare of affected birds. Poultry veterinarians should be aware of this atypical form of MD to ensure proper diagnosis and assess the impact of the disease.

INTRODUCTION

La maladie de Marek est une maladie virale contagieuse touchant les volailles, principalement les gallinacés, causée par un alpha-herpesvirus, le Marek's Disease Virus (MDV) du genre *Mardivirus* (Boodhoo et al., 2016 ; Nair et al., 2020). Le MDV est transmis horizontalement via l'inhalation de plumes ou squames contaminés. Le virus peut ainsi persister des mois voire des années dans l'environnement (Nair et al., 2020). Les vaccins contre la maladie de Marek protègent les animaux contre le développement des signes cliniques de la maladie, mais n'induisent pas d'immunité stérilisante expliquant le caractère ubiquiste du virus dans la production avicole malgré leur utilisation dans une partie des élevages (Boodhoo et al., 2016 ; Davidson, 2020). D'un point de vue pathologique, le MDV peut provoquer un large panel de syndromes. Les syndromes lymphoprolifératifs sont les plus fréquemment décrits (OIE, 2017 ; Nair et al., 2020) : paralysie des pattes associée à une hypertrophie des nerfs périphériques, nodules tumoraux dans les organes viscéraux, infiltration cutanée et lésions oculaires. De plus, la maladie de Marek peut induire des syndromes lymphodégénératifs et certaines souches récemment isolées peuvent provoquer une immunosuppression sévère (Shi et al., 2020). La maladie de Marek peut également induire une expression clinique liée à une atteinte inflammatoire du système nerveux central (SNC). En raison d'une telle variété de présentations cliniques, le diagnostic de maladie de Marek est toujours délicat, rendant difficile l'obtention d'une image fiable de l'importance actuelle de la maladie de Marek dans les élevages de volailles français. Depuis 2002, les praticiens de terrain décrivent des formes encéphalitiques de maladie de Marek dans les lots de poulets commerciaux, caractérisées par des signes nerveux associés à des lésions histopathologiques typiques retrouvés dans le SNC et les nerfs périphériques (données non publiées). Dans le but d'améliorer les connaissances sur la maladie de Marek en France, cette étude examine les formes encéphalitiques causées par le MDV dans les élevages de volailles situés dans la région des Pays de la Loire entre 2016 et 2020. Les signes cliniques et les lésions histopathologiques associées à cette forme encéphalitique de la maladie de Marek sont décrits.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Plan d'étude et échantillonnage

Une recherche rétrospective a été réalisée dans les laboratoires du Réseau Cristal à l'aide d'un logiciel d'enregistrement d'analyses (RESANALYSE). Les cas ont été sélectionnés sur la présence du mot clé « Maladie de Marek » dans les conclusions d'analyses réalisées sur les élevages de volailles suivis par ces laboratoires entre 2016 et 2020 dans la région des Pays de la Loire. Lorsqu'elles étaient disponibles, les informations sur la production, l'âge, les signes cliniques, la mortalité quotidienne et le statut vaccinal des animaux ont été recueillies à partir des formulaires de recueil des commémoratifs.

1.2. Examen macroscopique

Les oiseaux, vivants ou morts, ont été amenés dans un laboratoire de diagnostic vétérinaire. Les oiseaux vivants ont été rendus inconscients par électrocution puis immédiatement euthanasiés par exsanguination. Une autopsie a été effectuée selon les procédures de laboratoire de routine et les lésions macroscopiques observées ont été enregistrées.

1.3. Examen histopathologique

Des prélèvements d'encéphale, nerf sciatique, foie, pancréas, rein, proventricule, intestin, bourse de Fabricius, cœur, poumons, ovaires, testicules et glande surrénale ont été réalisés lors de l'autopsie et fixés dans du formol à 10%. Tous les tissus ont été recoupés et inclus en blocs de paraffine selon les procédures classiques. Des coupes de 4 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome ont été réalisées, colorées à l'hématoxyline et éosine (H&E) et examinées à l'aide d'un microscope optique.

1.3. Examen immunohistochimique

Les antigènes CD3 et CD268/BAFF-R (B cell activating factor receptor) ont été détectés par immunohistochimie pour identifier respectivement les lymphocytes T et B (Kurokawa et al., 2020). Cet examen a été effectué lorsque les prélèvements étaient disponibles (n=10/13) et a concerné les tissus d'intérêt suivants : SNC, nerfs périphériques, foie, reins, proventricule, poumons, pancréas, cœur, testicule, glande surrénale.

2. RESULTATS

2.1. Commémoratifs et observations cliniques

Quarante cas, pour lesquels un diagnostic présumé de maladie de Marek a été établi, ont été sélectionnés. Le diagnostic a été conforté par une histologie dans 24 cas. Parmi eux, 13 étaient des formes encéphalitiques avec des signes nerveux, des lésions macroscopiques minimes ou absentes et des résultats histopathologiques et immunohistochimiques typiques de maladie de Marek impliquant le SNC, les nerfs périphériques et les organes viscéraux. Les données cliniques et épidémiologiques des 13 cas présentant la forme encéphalique signes cliniques et mortalité quotidienne sont fournis dans le tableau 1. La majorité des formes encéphalitiques a été identifiée dans des élevages de poulets de chair certifiés (10/13), âgés de 45 à 56 jours, avec une moyenne de 51 jours. Un cas concernait des poulets de chair conventionnels âgés de 32 jours, tandis que 2 cas ont été enregistrés chez des poulets de chair label à 9 semaines et à 11 semaines. Les poulets de chair certifiés et conventionnels n'ont pas été vaccinés contre le MDV,

tandis que les 2 lots de poulets label ont été vaccinés contre le MDV (vaccin vecteur HVT-IBD *in ovo*). La paralysie du cou était le principal signe clinique observé. Le cou était bloqué, tendu vers le sol avec le bec posé sur la litière. Dans les cas plus graves, le cou est apparu complètement paralysé (paralysie flasque) et était étendu sur le sol (Figure 1). D'autres signes nerveux, comprenant des tics nerveux et torticolis, ont été observés dans 4 élevages. Dans ces cas, les poulets avaient une position anormale de la tête et une perte de coordination des mouvements (Figure 1). Il n'y avait pas de signe clinique signalé dans la ferme K, dans laquelle la maladie de Marek a été suspectée en raison de l'apparition de nombreux cas cliniques aux alentours. La mortalité journalière a été considéré comme normale (<0,1% par jour) dans 9 lots, mais cette limite a été dépassée pour 4 lots. Les oiseaux morts se trouvaient sur le ventre avec le cou étendu sur le sol. Le taux de morbidité n'a pas été renseigné.

2.2. Examen macroscopique

Des lésions macroscopiques ont été enregistrées sur 11 des 13 cas. Ces lésions concernaient principalement la rate (splénomégalie dans 6/11), le foie (congestion dans 5/11) et les reins (hypertrophie dans 3/11). Une congestion du thymus a pu être notée dans l'élevage A. Une atrophie des bourses de Fabricius a été notée dans les élevages F et J. Aucun lot n'a présenté d'hypertrophie des nerfs périphériques ou de tumeur viscérale, comme décrit dans les formes classiques de maladie de Marek.

2.2. Examen histopathologique

Une méningo-encéphalite non suppurée, légère à sévère, a été identifiée dans tous les lots dont l'encéphale a été prélevé (n=12). Les lésions spécifiques comprenaient une infiltration, multifocale à diffuse, périvasculaire (manchons périvasculaires) et des leptoméninges avec des lymphocytes et/ou des cellules lymphoïdes pléomorphes, comprenant des cellules blastiques, organisées en une ou plusieurs couches (Figure 2A). Des cellules lymphoïdes ont été observées jusqu'au sein du neuropile (n=8). Une gliose, légère à modérée, a aussi (n=9) été décrite. Les lésions sont réparties dans les substances blanche et grise, à tous les niveaux de l'organe (hémisphères cérébraux, cervelet, tronc cérébral et lobes optiques), avec la même intensité.
Une névrite lymphocytaire ou lymphoplasmocytaire légère à modérée a été identifiée dans les sections du nerf sciatique (n=10). Les infiltrations comprenaient des lymphocytes de petite à grande taille avec des noyaux hyperchromatiques et des plasmocytes occasionnels, disposés en petits amas ou de manière diffuse (Figure 2B). Des lésions similaires ont également été détectées dans les nerfs mésentériques (n=4), des nerfs ganglionnaires du proventricule (n=3), des surrénales (n=1), des ovaires (n=1) et de la bourse de Fabricius (n=1). Une infiltration périvasculaire et/ou interstitielle, légère à modérée, avec des cellules lymphocytaires et/ou lymphoïdes ont été observées dans le foie (n=8), le rein (n=8), le poumon (n=2), le testicule (n=2) et occasionnellement le cœur, le pancréas, l'ovaire et la glande surrénale (n=1), ainsi que dans la muqueuse et la sous-muqueuse du proventricule (n=6). Une atrophie de la bourse de Fabricius, modérée à sévère, était présente dans les trois cas pour lesquels la bourse de Fabricius a été prélevée.

2.2. Examen immunohistochimique

Dans le SNC, les cellules lymphoïdes des manchons périvasculaires et infiltrats méningés étaient systématiquement positives pour CD3 (Figure 2C).
Des cellules CD3 en plus ou moins grand nombre sont présentes dans le neuropile (n=10) et de rares cellules CD268 ont été détectées dans les leptoméninges et manchons périvasculaires (n=7). De même, la majorité des cellules lymphoïdes infiltrant les nerfs périphériques étaient positives pour CD3 (Figure 2D), avec seulement de rares cellules CD268 positives détectées occasionnellement dans les nerfs sciatiques. Des cellules CD3 positives ont également été identifiées dans l'interstitium, autour des vaisseaux sanguins et formant des lésions micronodulaires dans le foie (n=8), les reins (n=8), la muqueuse et sous-muqueuse proventriculaire (n=5), le testicule (n=2), le poumon (n=2), le cœur (n=1), le pancréas (n=1) et la glande surrénale (n=1). Une réaction positive forte et généralisée a également été remarquée dans les capillaires sinusoïdes hépatiques. Un nombre rare à faible de cellules CD268 positives a été observé autour des zones portales et dans les sinusoïdes hépatiques (n=8), dans l'interstitium rénal (n=7), la muqueuse proventriculaire (n=5) et formant des nodules discrets élargissant la lamina propria des bronches secondaires et tertiaires (n=2).

DISCUSSION

Nous avons décrit ici un ensemble de cas de maladie de Marek impliquant des lots de poulets de chair situés dans la région des Pays de la Loire, entre 2016 et 2020. Les cas ont été observés principalement entre octobre 2017 et octobre 2019 (92 %). Les oiseaux touchés étaient pour la plupart des poulets de chair non vaccinés et avaient entre 6 et 8 semaines (77 %). Le principal motif de consultation était l'apparition de signes nerveux. Chez les poulets infectés expérimentalement par le MDV, deux schémas cliniques impliquant le SNC sont observés : la paralysie transitoire (TP) et la maladie neurologique persistante (PND). La TP se caractérise par l'apparition d'une paralysie flasque du cou, qui tend ensuite à se généraliser. Dans la forme classique de TP, les signes cliniques disparaissent après 1-2 jours, tandis que dans la forme aiguë, les oiseaux affectés meurent rapidement. La PND est un syndrome caractérisé par le développement et la persistance de tics nerveux, d'ataxie et de torticolis (Swayne et al,

1989 ; Gimeno et al., 1999 ; Wajid et al, 2015). La PND peut apparaitre après une rémission de paralysie mais les 2 syndromes (TP et PND) semblent régulés de manière différente (Gimeno et al., 2001). Dans notre étude, les signes nerveux les plus fréquemment observés étaient une paralysie flasque du cou (69%), suggérant une TP. Les signes non paralytiques (tics nerveux et torticolis), compatibles avec la PND, représentaient 31 % des cas. Les signes cliniques observés dans cette étude sont donc compatibles avec une forme encéphalitique de maladie de Marek. Les 2 schémas cliniques (TP et PND) ont même été observés dans le même lot (Figure 1).

Les lésions macroscopiques n'ont été observées ni dans le SNC ni dans les nerfs périphériques. Les lésions viscérales, lorsqu'elles étaient présentes, étaient modérées et non spécifiques. Il est donc nécessaire de réaliser des examens complémentaires pour établir un diagnostic de la forme encéphalitique de maladie de Marek.

D'après la littérature, les lésions histologiques cérébrales sont séparées en 2 groupes suivant l'apparition des lésions. Durant la première étape inflammatoire transitoire, les premières lésions observées sont une vascularite suivie d'un œdème vasogénique. Ces lésions sont ensuite remplacées par des lésions proliférative permanentes caractérisées par des infiltrations lymphoïdes périvasculaires et du neuropile souvent associées à une gliose dans toutes les parties du cerveau (Swayne et al, 1987 ; Cho et al., 1998 ; Gimeno et al., 1999). Les lésions décrites dans notre étude correspondent à ces lésions proliférative, les lésions transitoires n'ayant pas été observées ici. Des infiltrations lymphoïdes similaires à celles décrites lors de forme classique de maladie de Marek (Nair et al., 2020 ; OIE, 2017) ont été observées sur différents organes viscéraux et nerfs périphériques malgré l'absence de lésions macroscopiques sur ces derniers. Ces lésions étaient moins sévères que celles observées dans l'encéphale. L'immunohistochimie a permis de révéler que la très grande majorité des cellules lymphoïdes présentes dans les infiltrations dans les différents organes (cerveau, nerfs périphériques et organes viscéraux) étaient des lymphocytes T, comme classiquement décrit lors d'infection à MDV (Mete et al., 2016 ; Nair et al., 2020 ; OIE, 2017).

D'après Nair et al., les formes encéphalitiques de maladie de Marek, décrites sur le terrain sur des lots commerciaux de poulets de chair entre cinq et sept semaines d'âge, sont occasionnelles et causent rarement une surmortalité (Nair et al., 2020). Toutefois, en marge de formes lymphoprolifératives, des signes neurologiques sont occasionnellement décrits : paralysies flasques du cou (Biswas et al., 2018 ; Mescolini et al., 2019), torticolis (Sani et al., 2017), tics nerveux (Mete et al., 2016). Cependant, nous avons vu dans notre étude un nombre significatif de cas cliniques caractérisés par une forme encéphalitique exclusive. De plus, dans 4/13 cas, une surmortalité a été notée sans autre diagnostic établi.

CONCLUSION

La maladie de Marek est toujours d'actualité en France. La forme encéphalitique, décrite ici, touche principalement des poulets non-vaccinés à partir de 6 semaines d'âge et doit faire partie intégrante du diagnostic différentiel en cas de signes nerveux chez le poulet. La suspicion est établie par l'observation d'une paralysie (principalement du cou) associés ou non à d'autres signes neurologiques. Le diagnostic est confirmé par l'indentification histologique d'une infiltration lymphoïde (majoritairement par des lymphocytes T) dans l'encéphale mais aussi des nerfs périphériques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Biswas D, Ruba T, Yasmin A, Nazneen MR, Hossain MM, Khan M., 2018. SAARC J Agric., (16), 181–192.
Boodhoo N, Gurung A, Sharif S, Behboudi S., 2016. Vet Res., 47:119.
Cho KO, Endoh D, Qian JF, Ochiai K, Onuma M, Itakura C., 1998. Avian Path., (27), 512-517.
Davidson I., 2020. Animals., (10), 1319.
Gimeno IM, Witter RL, Reed WM., 1999. Avian Dis., (43), 721-737.
Gimeno IM, Witter RL, Hunt HD, Reddy SM, Neumann U., 2001. Avian Path., (30), 397-409
Kurokawa A., Yamamoto Y., 2020. Vet. immunology and immunopathology (228), 110088.
Mescolini G, Lupini C, Felice V, Guerrini A, Silveira F, Cecchinato M, Catelli E., 2019. Poult. Sci. (98), 3130–3137
Mete A, Gharpure R, Pitesky ME, Famini D, Sverlow K, Dunn J., 2016. Avian Dis., (60), 826–836
Nair V, Gimeno I, Dunn J., 2020. In : Marek's Disease. In: Diseases of poultry 14th ed. (Swayne DE et al. editors) Hoboken, NJ : Wiley-Blackwell. p. 550–587.
[OIE] World Organisation for Animal Health., 2017 In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris, Chapter 3.3.13.
Sani NA, Aliyu HB, Musa IW, Wakawa AM, Abalaka SE, Oladele SB, Sa'idu L, Abdu PA., 2018. Sokoto J. Vet. Sc., (15) 36-41.
Shi M, Li M, Wang W, Deng Q, Li Q, Gao Y, Wang P, Huang T, Wei P., 2020. Viruses. (12), 1048.
Swayne DE, Fletcher OJ, Schierman LW., 1989. Avian Path., (18), 385–431.
Wajid S, Walkden-Brown S, Vanselow B, Islam A, Renz K., 2015. Aust. Vet. Jour., (93), 240–247

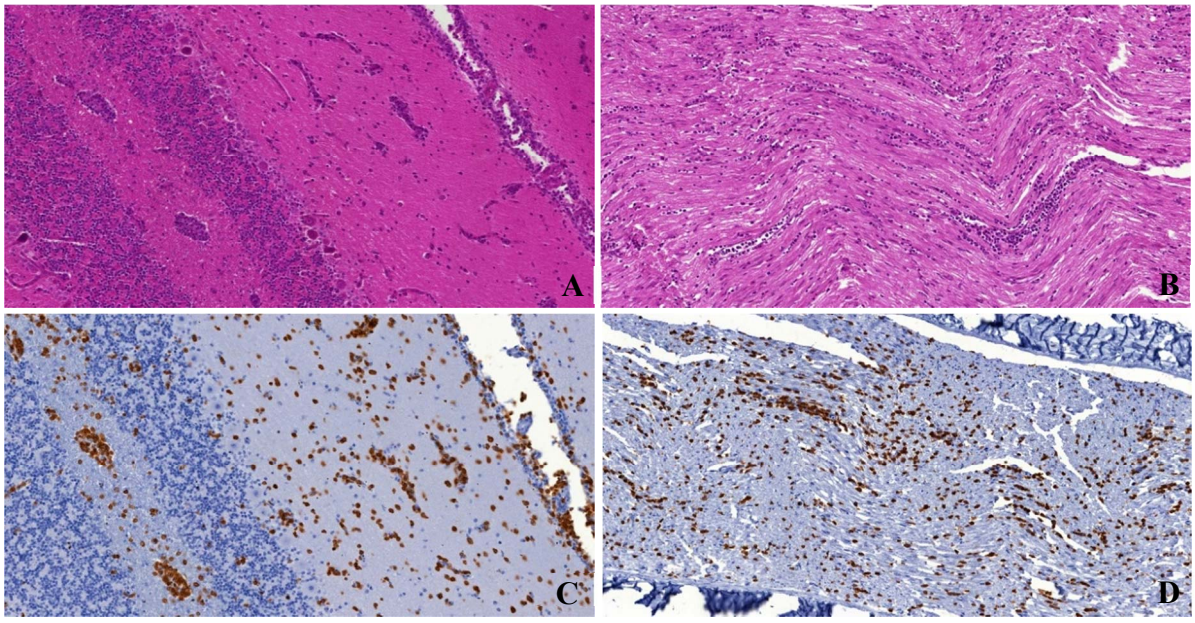
Tableau I. Données cliniques et épidémiologiques des 13 lots diagnostiqués « forme encéphalitique de la maladie de Marek » ; - = mortalité journalière <0,1%, sinon le pic de mortalité journalière a été noté.

Elevage	Mois/ Année	Age (j)	Production (poulet de chair)	Mortalité journalière	Paralysies	Autres signes neurologiques	Vaccin contre la maladie de Marek
A	02/18	32	Standard	1,3%	Aucune	Tics nerveux	Aucun
B	10/17	45	Certifié	-	Cou	Tics nerveux	Aucun
C	07/18	46	Certifié	0,7%	Cou	Aucun	Aucun
D	10/19	46	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
E	12/17	48	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
F	01/17	49	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
G	01/18	53	Certifié	0,2%	Cou et ailes	Aucun	Aucun
H	09/19	54	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
I	11/17	55	Certifié	-	Cou	Aucun	Aucun
J	10/19	56	Certifié	0,9%	Aucune	Torticollis	Aucun
K	08/19	56	Certifié	-	Aucune	Aucun	Aucun
L	05/19	61	Label	-	Ailes	Tics nerveux, torticollis	HVT
M	08/19	77	Label	-	Cou	Aucun	HVT

Figure 1. Photographie de poulets présentant des signes neurologiques dans le lot B : Paralysie flasque du cou (flèche du bas), tics nerveux (flèche du haut)



Figure 2. Microphotographies histopathologiques du système nerveux central et périphérique.
Coloration hématoxyline et éosine (H&E) x20 : infiltration lymphocytaire multifocale modérée dans le cerebellum (A) et dans le nerf sciatique (B).
Immunohistochimie, marquage CD3, x20 : mise en évidence des CD3 positifs, compatibles avec des lymphocytes T, dans le cerebellum (C) et dans le nerf sciatique (D). Sujets issus du lot D.



ALTERATION DU PROFIL DES SPHINGOLIPIDES CHEZ DES POULETS NOURRIS AVEC UNE DOSE DE FUMONISINES CONSIDEREE COMME SURE

Didier Tardieu[1], Maria Matard-Mann[2], Pi Nyvall Collen[2], Philippe Guerre[1]

[1] ENVT, Université de Toulouse - 23 Chemin des Capelles - 31300 TOULOUSE
[2] OLMIX S.A. - ZA du Haut du Bois - 56580 BREHAN
philippe.guerre@envt.fr

RÉSUMÉ
Les fumonisines sont des mycotoxines dont la toxicité se manifeste principalement en bloquant l'activité enzymatique de la céramide synthase, ce qui entraîne une perturbation du métabolisme des sphingolipides (SL). Si les effets des fumonisine B (FB) sur la sphinganine (Sa) et la sphingosine (So) sont bien documentés chez la volaille, peu d'informations sont disponibles sur leurs autres effets sur les SL. Nous avons développé une méthode UHPLC MS/MS permettant la détermination de 82 SL, dont 10 standards internes, dans le foie et le plasma de poulet. La méthode, une fois validée, a été utilisée pour mesurer les effets des FB1 et FB2 administrées à des poulets (n=10) à la dose de 20.8 mg FB1+FB2/kg d'aliment pendant 9 jours. Comparés aux témoins, des altérations significatives des membres des 7 familles de SL ont été observées dans le foie : bases sphingoïdes, céramides, dihydrocéramides, glycosylcéramides, sphingomyélines et dihydrosphingomyélines. En outre, des augmentations significatives de la sphinganine 1-phosphate, de la sphingosine 1-phosphate et des sphingomyélines, ont été observées dans le plasma. De manière intéressante, l'analyse discriminante par régression PLS de 11 SL dans le plasma a permis de discriminer les poulets exposés des poulets témoins, alors que l'analyse de Sa et So seuls n'a révélé aucune différence. En conclusion, nos résultats montrent que les effets des FB chez les poulets sont complexes et que le profilage des SL permet de détecter l'exposition aux FB lorsque la mesure de Sa et So s'avère non discriminante.

ABSTRACT
Strong alterations in the sphingolipid profile of chickens fed a dose of fumonisins considered safe
Fumonisins are mycotoxins known to exert most of their toxicity by blocking ceramide synthase, resulting in disruption of sphingolipid (SL) metabolism. If the effects of FB on sphinganine (Sa) and sphingosine (So) are well documented in poultry, little information is available on their other effects on SL. We developed an UHPLC MS/MS method that enabled the determination of 82 SL, including 10 internal standards, in chicken liver and plasma. The validated method was used to measure the effects of FB administered to chickens (n=10) at a dose of 20.8 mg FB1+FB2/kg feed for 9 days. Compared to the controls, significant alterations of sphingoid bases, ceramides, dihydroceramides, glycosylceramides, sphingomyelins and dihydrosphingomyelins were observed in the liver. In addition, significant increases in plasma sphinganine 1-phosphate, sphingosine 1-phosphate and sphingomyelins were observed in plasma. Interestingly, PLS analysis of 11 SL in plasma made it possible to discriminate exposed chickens from control chickens, whereas analysis of Sa and So alone revealed no difference. In conclusion, our results show that the effects of FB in chickens are complex, and that SL profiling enables the detection of exposure to FB when Sa and So fail.

INTRODUCTION

Les fumonisines sont des mycotoxines produites par des champignons du genre *Fusarium* présents dans le monde entier (Knutsen *et al*. 2018). Parmi les fumonisines, les fumonisines du groupe B (FB), et en particulier la fumonisine B1 (FB1) et la fumonisine B2 (FB2), sont les plus répandues et les plus étudiées. Ces composés peuvent être présents dans l'alimentation humaine et dans l'alimentation animale, où ils causent divers problèmes de santé. Les effets toxiques des FB varient selon l'espèce animale, la dose et la durée d'exposition. Des lésions hépatiques sont décrites chez toutes les espèces, y compris les volailles. Les FB sont par ailleurs classées dans le groupe 2B comme « probablement cancérigène pour l'homme ». Une dose journalière tolérable de FB a été définie pour l'homme et des limites maximales réglementaires établis, tandis que valeurs maximums recommandées en FB ont été établis dans les aliments pour animaux et dans les matières premières utilisées pour leur fabrication (Knutsen *et al*. 2018).

La toxicité des FB est principalement associée à leurs effets sur la synthèse des sphingolipides (SL). La structure de la FB1 étant similaire à celle des bases sphingoïdes (BS), précurseurs des SL, sa fixation à la céramide synthase inhibe fortement la synthèse *de novo* des SL. Ainsi, la concentration cellulaire en sphinganine (Sa), et dans une moindre mesure en sphingosine (So), augmentent avant l'apparition des signes de mycotoxicose. Le rapport Sa/So a donc été proposé comme biomarqueur d'exposition aux FB dans la plupart des espèces. Différentes altérations des différentes catégories de SL (céramides et sphingomyélines principalement) ont par ailleurs été observées chez les mammifères et en cultures cellulaires. Bien que d'autres mécanismes soient incriminés, ces altérations permettent d'expliquer la plupart des effets toxiques des FB (Riley *et al*., 2019, Chen et al., 2021).

Les altérations du métabolisme du SL sont peu documentées chez les espèces aviaires qui sont reconnues comme étant parmi les plus résistantes aux FB (Knutsen *et al*. 2018 ; Riley *et al*., 2019). Une caractérisation fine des effets des FB sur le profil des SL peut aider à comprendre l'origine de cette relative résistance. Cette caractérisation peut par ailleurs permettre de révéler si le rapport Sa:So est le meilleur bio-marqueur dans ces espèces ou si d'autres altérations peuvent être constatées à des niveaux inférieurs d'exposition.

Différentes approches basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) ont été développées pour l'analyse quantitative des SL (Wang *et al*., 2014). En raison de la complexité du métabolisme des SL, le profilage de chaque SL est nécessaire. Cependant, comme les concentrations de SL peuvent varier d'un facteur mille ou plus, la quantification des espèces de faible abondance est parfois difficile, notamment pour les espèces isotopiques et isomériques. Une autre limite à la caractérisation simultanée de différents SL est liée aux différences marquées de solubilité entre composés au sein d'une même classe de SL ou entre différentes classes (Wang *et al*., 2014). Par conséquent, un mélange de différents standards internes (SI) est généralement utilisé pour la quantification des SL, mais la récupération précise des différents analytes dans les différentes matrices analysées n'est pas toujours connue.

L'objectif de cette étude était d'examiner les effets des FB sur différentes classes de SL chez des poulets nourris avec une dose de toxines considérée comme sûre (limite maximale recommandée) pour cette espèce. Pour cela, une méthode très sensible de quantification de 82 SL basée sur la séparation optimisée des analytes par UHPLC-MS/MS a tout d'abord été développée. Les conséquences de l'exposition aux FB sur le profil en SL ont ensuite été étudiées dans le foie et le plasma de poulets pour lesquels les teneurs en Sa et So étaient préalablement connues (Laurain *et al*., 2021).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Détermination des teneurs en SL

La méthode de dosage développée est basée sur la méthode précédemment décrite par Wang *et al*. (2014). Dix standards internes obtenus correspondant au mélange « Ceramide/Sphingoid Internal Standard Mixture I » (SI) d'Avanti obtenu auprès de Sigma (Sigma Chemical Co, Saint Quentin Fallavier, France) ont été utilisés. 33 SL disponibles en tant que standards ont par ailleurs été utilisés. La méthode utilisée est linéaire sur une large gamme de concentrations en analytes. Les SL non disponibles en tant que standards ont été quantifiés en utilisant les courbes de calibration obtenues sur les SL de même classe les plus proches en masse.

1.2. Echantillons utilisés dans l'essai

Les échantillons de foie et de plasma de poulets utilisés dans cette étude ont été obtenus comme précédemment décrit (Laurain *et al*., 2021). Des aliments contaminés ont été produits sur une base maïs + soja pour obtenir une concentration finale de 20 mg FB1+FB2/kg. Les teneurs en mycotoxines ont été mesurées par LC-MS/MS, aucune toxine autre que les fumonisines n'a été quantifiée à un niveau significatif. L'aliment a été distribué à volonté pendant 9 jours, les animaux ont été abattus à l'âge de 21J. Aucun signe clinique et aucune altération de performance n'a été observée au cours de l'étude.

1.3. Analyse statistique

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec XLSTAT Biomed (Addinsoft, 33000 Bordeaux, France). La linéarité a été mesurée à l'aide d'un test de Fisher. La méthode utilisée dans cet essai a été

comparée au dosage de la Sa et de la So en Fluorescence par recherche de corrélation entre les variables (test de Spearman et régression de Passing et Bablok) et par analyse de Bland-Altman. Les SL dans les tissus ont été rapportés sous forme de moyennes ± SD. La comparaison des groupes a été effectuée à l'aide d'une ANOVA après vérification de l'homogénéité de la variance (test de Hartley).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Méthode d'analyse des SL

Les conditions chromatographiques ont été choisies pour permettre une bonne séparation des SL afin de comparer l'effet des FB sur les céramides (CER), les dihydrocéramides (DHCER), les sphingomyélines (SM) et les dihydrosphingomyélines (DHSM). Une très bonne corrélation (R^2 >0,99) entre le nombre de carbone et le temps de rétention d'une part et entre le nombre d'insaturations et le temps de rétention d'autre part, permettant de prédire et de confirmer le temps de rétention d'analytes qui ne sont pas disponibles sous forme de standards.
Un bon taux de récupération (R, entre 70% et 120%) et une faible variabilité (RSD, inférieure ou proche de 20%) ont été observés pour la plupart des 10 SI utilisés dans cette étude dans le foie et le plasma. La validation de la méthode en utilisant les SL disponible comme standards a été effectuée sur des échantillons de foie et de plasma fortifiés. Pour chaque analyte, la concentration mesurée dans l'échantillon a été corrigée par la valeur R obtenue pour l'SI correspondant. A chaque classe de SL correspond un SI, sauf pour certains analytes pour lesquels aucune correction n'a été trouvée. Des valeurs R comprises entre 70% et 120% avec une RSD inférieure ou proche de 20% ont été observées pour la plupart des analytes dosés dans le foie et le plasma, validant ainsi la méthode dans les deux matrices.

2.2. Mesure des effets des FB

2.2.1. Effets des FB sur les SL dans le foie

La distribution à des poulets d'un aliment contenant 20 mg FB1 + FB2/kg pendant neuf jours a entrainé de nombreuses modifications des teneurs hépatiques en sphingolipides (Tableau 1). Les FB ont augmenté les BS et cet effet était plus prononcé pour la Sa que pour la So, en accord avec les données de la littérature (Riley et al., 2019). Cette augmentation a été accompagnée d'une augmentation marquée de formes phosphorylées des BS. Les effets des FB sur les céramides ont varié en fonction de la BS et de la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras. Les CER contenant un acide gras de 16 carbones et moins ont été diminués alors que ceux contenant un acide gras à 18 carbones et plus ont été inchangés ou augmentés. Les DHCER ont été augmentés qu'elle que soit la longueur de la chaine carbonée. Des effets de même nature ont été observés pour les SM et les DHSM. De même, la teneur en glycosylcéramides hépatique a varié en fonction de la longueur de la chaine carbonée de l'acide gras entrant dans leur composition. Les effets globaux des FB sur les sphingolipides hépatiques sont en concordance avec ceux observés chez les mammifères (Loiseau et al., 2015 ; Riley et al., 2019). L'analyse ciblée révèle en revanche une absence d'augmentation des teneurs en deoxysphinganine, une augmentation des teneurs en dihydrocéramides, une diminution des céramides à courte chaine alors que les céramides à très longue chaine sont augmentés, et une absence de diminution des teneurs en sphingomyélines. Une analyse discriminante partielle des moindres carrés (PLS-DA) réalisée sur 12 sphingolipides représentatifs des effets observés permet de clairement différencier les poulets exposés aux fumonisines de ceux recevant l'aliment témoin (Figure 1).

2.2.2. Effets des FB sur les SL dans le plasma

Aucun effet des FB sur Sa et So n'a été observé dans cette étude, en accord avec les données de la littérature à ce niveau de FB dans l'aliment (Laurain *et al*., 2021 ; Metayer *et al*., 2019). Une augmentation significative de Sa1P (d18:0P) a été observée, tandis qu'une faible augmentation non significative de So1P (d18:1P) a été observée. Un effet des FB sur les formes phosphorylées des BS a déjà été rapporté dans le foie de canards pour des concentrations plus élevées en FB dans l'aliment, mais cette étude montre pour la première fois que la teneur en Sa1P dans le plasma est un biomarqueur plus sensible d'exposition aux FB que la Sa (Tardieu et al., 2006). Une augmentation de la Sa1P dans le plasma a déjà été rapportée chez des souris exposées à la FB1, et la Sa1P a été utilisée pour détecter une 'exposition au FB chez l'homme (Riley et al., 2019). Aucune différence significative entre groupes n'a été trouvée pour les céramides. Les effets des FB sur les sphingomyélines ont varié avec la BS et avec la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras. Comme pour le foie, l'analyse PLS-DA menée sur six sphingolipides représentatifs et le rapport Sa1P:So1P permet de clairement différencier les poulets exposés aux fumonisines de ceux recevant l'aliment témoin (Figure 2).

CONCLUSION

En conclusion, l'analyse ciblée des SL a révélé de nombreuses altérations des sphingolipides au niveau hépatique dont l'analyse fine révèle des différences par rapport aux mammifères alors que les effets sur le rapport Sa/So sont similaires. Ces différences pourraient contribuer à expliquer la relative résistance des poulets aux fumonisines. Au niveau plasmatique, cette analyse a permis de détecter une exposition aux toxines que la seule mesure du rapport Sa/So ne permettait pas.

Tableau 1: Teneurs en SL dans le foie et le plasma de poulets témoins et de poulets nourris avec un aliment contenant 20 mg FB1+FB2/kg pendant 9 jours

Name	Liver[1]		Plasma[2]		Name	Liver[1]		Plasma[2]	
	Control	FB	Control	FB		Control	FB	Control	FB
Bases sphingoides et formes dérivées simples					**Glycosylcéramides**				
1dSo	1.15 ± 0.24	1.76 ± 0.82	0.34 ± 0.12	0.42 ± 0.25	Glu18:1/16:0	8516 ± 1397	5699 ± 1836*	598 ± 126	452 ± 103
1dSa	10.01 ± 3.29	10 ± 4.2	0.51 ± 0.17	0.46 ± 0.18	Hex18:1/18:0	2979 ± 717	2520 ± 629	111 ± 27	112 ± 23
d18:1 (So)	7635 ± 2247	10463 ± 2869*	198.8 ± 84.0	184.7 ± 39.4	Hex18:1/22:0	8406 ± 2007	14866 ± 4845*	261 ± 63	304 ± 84
d18:0 (Sa)	815 ± 222	2288 ± 924*	59.0 ± 6.9	60.1 ± 8.6	Hex18:1/24:0	9382 ± 2539	13386 ± 4989*	293 ± 69	367 ± 68
d18:1P	573 ± 191	1147 ± 419*	1534 ± 603	1811 ± 944	Glu18:1/24:1	7094 ± 1206	10498 ± 2830	405 ± 191	456 ± 155
d18:0P	55 ± 30	138 ± 73*	122 ± 46	311 ± 225*	Lac18:1/16:0	9215 ± 2180	6374 ± 1446*	514 ± 138	407 ± 95
GluSo	1344 ± 252	2082 ± 892*	9.1 ± 3.2	9.8 ± 2.7	Lac18:1/18:0	1953 ± 403	1875 ± 512	87 ± 27	99 ± 37
LacSo	19.6 ± 7.3	24.4 ± 10.6	ND	ND	Lac18:1/24:1	3830 ± 1108	4639 ± 2487	ND	ND
LysoSM	160 ± 29	172 ± 31	31.5 ± 11.9	34.5 ± 10.3	**Sphingomyélines**				
Céramides					SM18:1/14:0	258 ± 91	216 ± 95	579 ± 84	495 ± 90*
18:1/2:0	121 ± 54	173 ± 43	12.2 ± 2.4	14.8 ± 3.1	SM18:1/16:0	74212 ± 17808	59550 ± 22640	56060 ± 14141	44320 ± 9165*
18:1/14:0	1285 ± 226	945 ± 203*	9.07 ± 2.60	7.65 ± 1.26	SM18:1/18:1	157 ± 49	211 ± 104	3113 ± 574	2852 ± 337
18:1/16:0	706486 ± 124469	504758 ± 73900*	2812 ± 867	2644 ± 973	SM18:1/18:0	51624 ± 11361	53407 ± 16578	17499 ± 3123	18240 ± 3873
18:1/18:1	876 ± 170	1286 ± 328*	97 ± 33	90 ± 22	SM18:1/20:0	9693 ± 2262	12346 ± 3365	1555 ± 293	1838 ± 331
18:1/18:0	75382 ± 15379	72004 ± 13639	414 ± 307	388 ± 135	SM18:1/22:2	924 ± 234	1159 ± 303	882 ± 156	1003 ± 185
18:1/20:0	37367 ± 11762	44027 ± 11764	226 ± 137	230 ± 75	SM18:1/22:1	1886 ± 507	2388 ± 635	724 ± 156	819 ± 156
18:1/22:2	3724 ± 486	4220 ± 675	171 ± 20	175 ± 15	SM18:1/22:0	126082 ± 20545	179131 ± 45760*	6839 ± 1346	8473 ± 1611*
18:1/22:1	9731 ± 2342	10427 ± 1943	217 ± 47	217 ± 28	SM18:1/23:1	1197 ± 461	1416 ± 333	1466 ± 162	1590 ± 217
18:1/22:0	137824 ± 23336	158290 ± 25717	2651 ± 1440	2746 ± 1234	SM18:1/23:0	51549 ± 10638	72012 ± 17340*	1814 ± 417	2482 ± 491*
18:1/:23:1	3575 ± 902	3916 ± 165	183 ± 20	176 ± 17	SM18:1/24:3	703 ± 148	887 ± 201*	609 ± 92	693 ± 123
18:1/23:0	57081 ± 8932	74409 ± 16213*	2516 ± 909	2705 ± 787	SM18:1/24:2	12586 ± 3184	14501 ± 4015	5324 ± 812	6157 ± 992
18:1/24:2	141334 ± 26043	161388 ± 24647	4596 ± 2742	5429 ± 1769	SM18:1/24:1	58984 ± 15967	79297 ± 14028*	10551 ± 1717	12718 ± 1684*
18:1/24:1	195825 ± 22357	208497 ± 28894	6237 ± 3462	6943 ± 3549	SM18:1/24:0	19388 ± 8080	29423 ± 7158*	1221 ± 229	1712 ± 264*
18:1/24:0	51054 ± 9607	66790 ± 13946*	3095 ± 1081	3209 ± 1092	SM18:1/25:2	424 ± 67	484 ± 61	121 ± 19	142 ± 15*
18:1/25:1	1260 ± 192	1685 ± 386*	64 ± 27	77 ± 30	SM18:1/25:1	886 ± 178	1148 ± 163*	17 ± 30	209 ± 27*
18:1/26:2	289 ± 85	370 ± 115	3.1 ± 4.6	4.2 ± 6.8	SM18:1/25:0	678 ± 162	922 ± 169*	85 ± 14	98 ± 11*
18:1/26:1	351 ± 69	449 ± 96*	11 ± 13	23 ± 9	SM18:1/26:3	ND	ND	133 ± 13	145 ± 23
18:1/26:0	99 ± 71	143 ± 39	8.2 ± 7.4	8.0 ± 6.6	SM18:1/26:2	466 ± 61	544 ± 71*	153 ± 14	161 ± 20
18:1/16:0P	-	-	ND	ND	SM18:1/26:1	554 ± 96	640 ± 58*	100 ± 11	109 ± 12
18:1/18:0P	-	-	ND	ND	SM18:1/26:0	392 ± 39	433 ± 26*	67 ± 10	73 ± 7
Dihydrocéramides					**Dihydrosphingomélines**				
18:0/2:0	ND	38.7 ± 21	0.72 ± 1.44	3.60 ± 2.03	SM18:0/16:0	22531 ± 5717	30358 ± 10496	9961 ± 2375	11000 ± 2849
18:0/16:0	51847 ± 25043	66188 ± 17952	514 ± 186	421 ± 122	SM18:0/18:0	5509 ± 1371	7406 ± 2279*	751 ± 113	868 ± 147
18:0/18:0	1796 ± 742	2610 ± 632*	51 ± 9	57 ± 9	SM18:0/20:0	1536 ± 483	2109 ± 581*	122 ± 16	146 ± 15*
18:0/20:0	294 ± 145	446 ± 141*	29 ± 4	30 ± 5	SM18:0/22:0	6766 ± 3216	11118 ± 3186*	162 ± 33	244 ± 46*
18:0/22:0	2169 ± 567	2857 ± 420*	205 ± 27	198 ± 23	SM18:0/23:0	2268 ± 934	3400 ± 853*	89 ± 13	114 ± 11*
18:0/23:0	258 ± 165	404 ± 100*	38 ± 19	25 ± 16	SM18:0/24:1	1672 ± 672	2435 ± 479*	144 ± 20	197 ± 32*
18:0/24:0	2531 ± 1321	3218 ± 556	588 ± 240	480 ± 160	SM18:0/24:0	1217 ± 404	1647 ± 445*	71 ± 10	85 ± 9*

[1]Resultats exprimés en pmol/g, moyenne ± SD, n=10
[2]Resultats exprimés en pmol/ml, moyenne ± SD, n=10

Figure 1. Analyse discriminante partielle des moindres carrés de 12 SL dans le foie de poulets témoins (C) et de poulets nourris pendant 9 jours avec 20 mg de FB1 + FB2/kg (F). (A) Graphique de corrélation entre les variables explicatives (X) et dépendantes (Y). (B) Discrimination sur les axes factoriels extraits des variables explicatives originales. $R^2X = 0,577$, $R^2Y = 0,88$, $Q^2 = 0,83$.

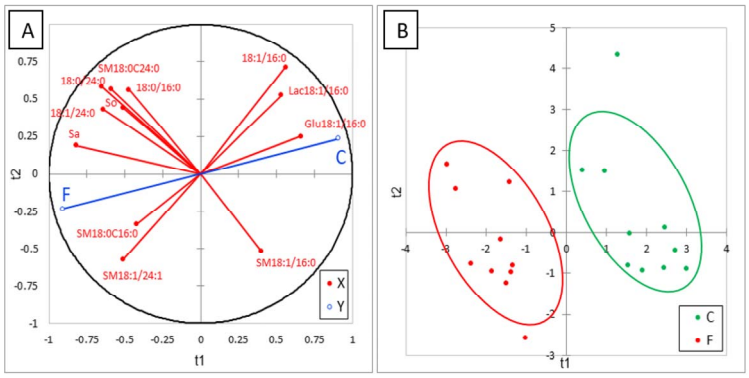
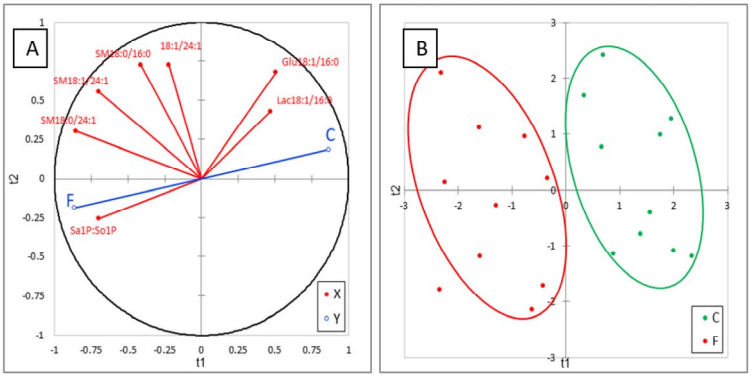


Figure 2. Analyse discriminante partielle des moindres carrés de 6 SL et du rapport Sa1P:So1P dans le plasma de poulets témoins (C) et de poulets nourris pendant 9 jours avec 20 mg de FB1 + FB2/kg (F). (A) Graphique de corrélation entre les variables explicatives (X) et dépendantes (Y). (B) Discrimination sur les axes factoriels extraits des variables explicatives originales. $R^2X = 0,652$, $R^2Y = 0,787$, $Q^2 = 0.757$.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chen, J.; Wen, J.; Tang, Y.; Shi, J.; Mu, G.; Yan, R.; Cai, J.; Long, M. Research Progress on Fumonisin B1 Contamination and Toxicity: A Review. Molecules 2021, 26, 5238.

Knutsen, H.; Alexander, J.; Barregård, L.; Bignami, M.; Brüschweiler, B.; Ceccatelli, S.; Cottrill, B.; Dinovi, M.; Edler, L.; EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); et al. Risks for Animal Health Related to the Presence of Fumonisins, Their Modified Forms and Hidden Forms in Feed. EFSA J. 2018, 16.

Laurain, J.; Tardieu, D.; Matard-Mann, M.; Rodriguez, M.A.; Guerre, P. Fumonisin B1 Accumulates in Chicken Tissues over Time and This Accumulation Was Reduced by Feeding Algo-Clay. Toxins 2021, 13, 701.

Loiseau, N.; Polizzi, A.; Dupuy, A.; Therville, N.; Rakotonirainy, M.; Loy, J.; Viadere, J.-L.; Cossalter, A.-M.; Bailly, J.-D.; Puel, O.; et al. New Insights into the Organ-Specific Adverse Effects of Fumonisin B1: Comparison between Lung and Liver. Arch. Toxicol. 2015, 89, 1619–1629.

Metayer, J.-P.; Travel, A.; Mika, A.; Bailly, J.-D.; Cleva, D.; Boissieu, C.; Guennec, J.L.; Froment, P.; Albaric, O.; Labrut, S.; et al. Lack of Toxic Interaction Between Fusariotoxins in Broiler Chickens Fed throughout Their Life at the Highest Level Tolerated in the European Union. Toxins 2019, 11, 455.

Riley, R.T.; Merrill, A.H. Ceramide Synthase Inhibition by Fumonisins: A Perfect Storm of Perturbed Sphingolipid Metabolism, Signaling, and Disease. J. Lipid Res. 2019, 60, 1183–1189.

Tardieu, D.; Tran, S.T.; Auvergne, A.; Babilé, R.; Benard, G.; Bailly, J.D.; Guerre, P. Effects of Fumonisins on Liver and Kidney Sphinganine and the Sphinganine to Sphingosine Ratio during Chronic Exposure in Ducks. Chem. Biol. Interact. 2006, 160, 51–60.

Wang, J.-R.; Zhang, H.; Yau, L.F.; Mi, J.-N.; Lee, S.; Lee, K.C.; Hu, P.; Liu, L.; Jiang, Z.-H. Improved Sphingolipidomic Approach Based on Ultra-High Performance Liquid Chromatography and Multiple Mass Spectrometries with Application to Cellular Neurotoxicity. Anal. Chem. 2014, 86, 5688–5696.

SESSION

SYSTEMES D’ELEVAGE - MANAGEMENT - BIEN-ETRE ANIMAL

SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT - BIEN ETRE ANIMAL

Communications orales

MISE AU POINT ET VALIDATION D'UNE METHODE D'EVALUATION EN FERME DU BIEN-ETRE DES CANARDS MULARDS PRETS-A-ENGRAISSER

Litt Joanna[1], Varvenne Marion[1], Pertusa Marion[1]

[1]ITAVI, Agrocampus, B11, 1003 allée Jean d'Arcet, 40280 HAUT MAUCO
litt@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

L'ITAVI, en concertation avec différentes parties prenantes internes et externes aux filières avicoles, travaille depuis 2015 sur l'élaboration de méthodologies EBENE® conçues pour autoévaluer le bien-être des volailles en élevage commercial. Une méthodologie spécifique au canard mulard prêt-à-engraisser a été mise au point. Le protocole d'évaluation retenu suit les 3 mêmes étapes que pour les autres espèces avicoles, au cours desquelles sont relevés 34 indicateurs liés à l'environnement et aux pratiques d'élevage, au comportement de groupes d'animaux et à l'état sanitaire d'un échantillon d'animaux. Parmi eux 24 sont communs à d'autres productions, 4 ont fait l'objet d'une adaptation de leurs modalités de réponse et 7 sont spécifiques. Un scoring final permet de présenter un résultat agrégé sous forme d'un radar à 12 branches où chaque critère de bien-être animal est évalué par une note comprise entre 0 (cas le plus délétère) et 5 (cas le plus favorable pour l'animal). A partir d'un échantillon de 20 fermes suivies en 2020-2021, différentes qualités des indicateurs ont été évalués, à savoir leur répétabilité intra et inter observateur(s) et leur sensibilité. Parmi les 9 indicateurs directs évaluables, 3 (Boiteux, Se toilette, S'étire) ont ainsi été montrées comme répétables au niveau intra et inter observateurs 3 (Petit, Blessé, Yeux sales) comme répétable au niveau intra mais dont la répétabilité inter observateurs restait à améliorer et 3 (Couché, Halète et Explore) comme répétable au niveau inter mais dont la répétabilité intra restait à améliorer. Ces 9 indicateurs, ainsi que 12 autres (6 directs et 6 indirects) sont sensibles. Ces résultats nous ont amené à revoir la définition de certains indicateurs et à préciser les conditions climatiques de mesure. Les prochaines étapes sont l'extension de l'application smartphone déjà disponible à cette espèce et la mise en place de sessions de formation garantissant la bonne appropriation et application de la méthode sur le terrain.

ABSTRACT
Development and validation of a method to assess welfare of mule duck in farm during the breeding period

ITAVI, in consultation with various stakeholders inside and outside the poultry industry, has been working since 2015 on the development of EBENE® methodologies designed to self-assess the welfare of poultry in commercial farming. A specific methodology for ready-to-fat mulard ducks has been developed. The assessment protocol used follows the same 3 steps as for other poultry species, during which 34 indicators related to the environment and husbandry practices, the behavior of groups of animals and the health status of a sample of animals are recorded. Among them, 24 are common to other productions, 4 have been adapted to their response modalities and 7 are specific. A final scoring allows to present an aggregated result in the form of a 12-branch radar where each criterion of animal welfare is evaluated by a score between 0 (most deleterious case) and 5 (most favorable case for the animal). From a sample of 20 farms monitored in 2020-2021, different qualities of the indicators were evaluated, as their intra and inter observer repeatability and their sensitivity. Among the 9 assessable condition indicators, 3 (Lame, Preening, Stretching) were shown to be intra- and inter-observer repeatable, 3 (Small size, Body lesion, Dirty Eyes) were shown to be intra- repeatable but inter-observer repeatability needed to be improved, and 3 (Lying, Panting, and Exploring) were shown to be inter- repeatable but intra- repeatability needed to be improved. These 9 indicators, as well as 12 others (6 direct and 6 indirect) are sensitive. These results led us to revise the definition of some indicators and to specify the climatic conditions of measurement. The next steps are the extension of the smartphone application already available to this species and the implementation of training sessions to ensure the proper appropriation and application of the method in the field.

INTRODUCTION

L'amélioration des pratiques d'élevage à l'échelle des filières avicoles nécessite une méthodologie partagée, standardisée et scientifiquement validée permettant d'évaluer objectivement le niveau de bien-être des animaux d'un élevage à un instant t et son évolution dans le temps. L'ITAVI, en concertation avec différentes parties prenantes internes et externes aux filières avicoles, travaille depuis 2015 sur l'élaboration de méthodologies conçues pour autoévaluer le bien-être des volailles à l'échelle d'un lot d'élevage (Bignon et al., 2017). Celles-ci, appelées EBENE®, s'appuient sur un cadre conceptuel générique pour l'ensemble des filières avicoles, s'inspirant de celui développé par Blokhuis et al. (2010) dans le cadre du projet européen Welfare Quality®. Elles sont disponibles sous la forme d'une application smartphone permettant d'évaluer dans un élevage commercial en direct les 12 critères nécessaires pour estimer le niveau de bien-être des poulets de chair, dindes, pintades, cailles, lapins et poules pondeuses. Les étapes utilisées pour le développement inital d'EBENE® restent sensiblement les mêmes pour chaque nouvelle espèce évaluée (canard poisson) ou maillons (reproducteurs), à savoir :

1. L'adaptation du protocole d'évaluation selon les spécificités de l'espèce et le choix des indicateurs directs (mesurés sur animal) ou indirects (mesurés via l'environnement) retenus.
2. La vérification de :
   (i) de la fiabilité des indicateurs, définie comme l'étroitesse de l'accord entre des résultats indépendants obtenus sous différentes conditions (ISO, 1993, 1994) pouvant s'examiner selon deux aspects : la répétabilité intra et inter observateurs.
   (ii) la sensibilité des indicateurs, définie comme la capacité à détecter un changement significatif par la variation de leur nature et/ou de leur ampleur.
3. La proposition d'un système de transformation des données permettant de passer des données brutes à un score agrégé (scoring) du niveau de bien-être pour chacun des 12 critères retenus compris entre 0 (cas le plus délétère) et 5 (cas le plus favorable) et la vérification de la variabilité des scores obtenus.

Les résultats concernent ici les canards mulards en phase d'élevage (75 à 90 jours).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Mesures, échantillonnage intra-fermes et scoring

Le travail d'adaptation de l'outil EBENE® au canard mulard en phase d'élevage (nommé aussi canard prêt-à-engraisser) a mobilisé un groupe de travail dédié, composé d'ingénieurs de l'ITAVI experts sur la thématique du bien être des volailles, de membres de 6 groupes coopératifs de l'Ouest et du Sud-Ouest, du CIFOG (interprofession des palmipèdes à foie gras), du CEPSO (Centre d'Etude des Palmipèdes du Sud-Ouest), d'éleveurs et de vétérinaires. Le groupe ainsi constitué s'est réuni pour valider différents jalons au cours du développement de la méthodologie.

En s'aidant du protocole validé pour les volailles plein-air, et de propositions issues d'échanges multi filières, différentes adaptations ont été proposées puis testées dans quatre élevages. L'ensemble des adaptations retenues a fait l'objet d'une validation finale par le groupe de travail avant une utilisation plus large du protocole d'évaluation retenu. Le protocole retenu suit les mêmes étapes que pour les autres espèces avicoles à savoir : (1) une étape de collecte d'infor-mations (variables qualitatives) et mesures (variables quantitatives) sur le bâtiment et le lot observé, (2) une étape de mesure du comportement de 3 groupes de 20-30 animaux observés durant 5 minutes sur différentes zones (3) une étape de mesure de l'état sanitaire par relevé du nombre d'animaux présentant des critères de morbidité ou un état corporel altéré en se déplaçant le long deux 2 transects. En fonction du système d'élevage et de la répartition des animaux au moment de la visite, les étapes (2) et (3) sont réalisées soit intégralement dans le bâtiment ou sur le parcours, soit en combinant des observations dans le bâtiment et sur le parcours. L'évaluation repose sur 34 indicateurs dont 21 indicateurs directs (mesurés sur animal) et 13 indicateur indirects (mesurés via l'environnement). Parmi eux, (i) 24 sont communs à d'autres productions, (ii) 4 ont fait l'objet d'une adaptation des modalités de réponse (Rationnement, Distance, Enrichissement et Type de parcours) pour mieux répondre aux spécificités liées à l'espèce et son mode de production et (iii) 6 sont spécifiques au canard prêt-à-engraisser (Tableau 1). Parmi les 24 indicateurs communs à d'autres productions, 2 (Etat du parcours et Autre anomalie) sont positionnés différemment, dans le cadre conceptuel EBENE®, modifiant leur contribution au résultat lors de l'agrégation par critère. Des conditions d'application de la méthodologie dans les élevages ont par ailleurs été définies : à savoir un âge d'au moins 63 jours et un délai du début de l'évaluation par rapport au repas d'au moins 6h, pour ne pas observer des comportements liés au rationnement.

Dans un souci d'homogénéité de la méthodologie appliquée entre filières, les modalités de transformation en score et d'agrégation déjà développées pour les indicateurs communs aux autres espèces (canards Pékin et Barbarie reproducteurs en particulier), ont été privilégiés. Les modalités de transformation en scores de 17 indicateurs sont similaires à celles retenus pour d'autres espèces (canards reproducteurs et/ou poulets de chair). Trois autres indicateurs ont fait l'objet d'une modification uniquement de leur scoring, en proposant soit un scoring plus strict (Disponibilité aux mangeoires, Mortalité), soit un scoring moins strict (Boiteux) compte tenu de la variabilité observée des données. Le scoring des 11 derniers indicateurs (4 indicateurs adaptés et 7 spécifiques au canard mulard) résulte de discussions avec le groupe de travail, faute d'un scoring déjà existant. Ces scores sont révisables à moyen terme selon la variabilité rencontrée à plus grande échelle et des progrès dans le temps de la filière.

1.2. Choix des fermes et organisation des visites

Deux séries de 10 fermes ont été suivies de mai à juillet 2020 et de juin à juillet 2021. Les fermes ont été choisies selon leur localisation (départements 40, 64 et 32). Pour la série 1 (10 fermes), des mesures ont été effectuées en fin d'élevage conformément au protocole EBENE® canard mulard décrit ci avant, (i) par 1 personne (observateur 1) lors de 2 visites espacées de 24h (répétabilité intra observateur ; 5 fermes) et (ii) par 2 personnes (observateurs 1 et 2) observant les mêmes animaux mais notant de façon indépendante (répétabilité inter observateurs ; 5 autres fermes). Pour la série 2 (10 fermes), des mesures ont été effectuées en fin d'élevage par un autre observateur (observateur 3). La formation des observateurs a consisté en une formation théorique appuyée de référentiels photos et vidéos, complétée par une visite avec l'observateur 1 visant à (i) s'approprier les référentiels et (ii) discuter/préciser les seuils de notation.

1.2. Analyses statistiques

Pour évaluer la répétabilité intra-observateur, les résultats de chaque série de mesure ont été agrégés par élevage, du fait que les groupes d'animaux observés étaient différents entre les deux visites. En raison de la taille de l'échantillon (n = 5), seule une analyse descriptive a été réalisée. Pour évaluer la répétabilité inter-observateurs, les résultats de chaque série de mesure ont été agrégés par zone ou transect car les observateurs réalisaient les mesures simultanément sur les mêmes groupes d'animaux. L'analyse a été réalisée à partir d'une analyse descriptive des données et du calcul du coefficient de concordance de Lin (CCLin). Le CCLin a été obtenu avec la fonction CCC (package DescTools) et son intervalle de confiance (IC) calculé (argument conf.level de la fonction CCC). Les indicateurs ont été considérés comme validés lorsque la valeur CCLin est supérieure à 0,7 et la borne basse de l'IC supérieure à 0,6 (Napolitano et al., 2005; Plesch et al., 2010). La sensibilité des indicateurs et la variabilité des scores de chaque critère ont été évaluées à partir des données des 10 fermes suivies par l'observateur 1 de la série 1, en considérant uniquement la première visite en cas de visite double, et des 10 fermes de la série 2 suivies par l'observateur 3. Les indicateurs directs ont été considérés comme sensibles lorsque l'écart observé entre les valeurs min et max dépassent 10% de la valeur max de l'indicateur. Les indicateurs indirects ont été considérés comme sensibles lorsque (i) le coefficient de variation (CV) ≥ 10 % (variables quantitatives), ou (ii) au moins 3 modalités sont représentées (variables qualitatives à 3 ou 4 modalités), ou (iii) lorsque l'effectif par classe > 3 (variables qualitatives à 2 modalités).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

1.2. Fiabilité et sensibilité des indicateurs

Répétabilité intra-observateur des indicateurs directs

Les indicateurs Petit, Blessé, Boiteux, Se toilette, S'étire, Yeux sales satisfont nos critères de répétabilité car les résultats des évaluations successives de l'observateur sont comparables. Les indicateurs Petit, Blessé, Boiteux, Se toilette et S'étire enregistrent en effet des valeurs faibles (prévalence ≤ 2,8 % ou nombres d'occurrences ≤ 31) pour lesquels peu d'écarts entre visites sont constatés (majorité des écarts de l'ordre respectivement de 0,5 % et 10 points). L'indicateur Yeux sales a une prévalence plus élevée (≤ 6,4 %), les écarts observés entre les 2 visites paraissent très faibles (< 0,8 %) et le classement des élevages apparait inchangé. Seule 1 ferme/5 a montré un écart notable pour cet indicateur (delta de 4,6 points).

Les autres indicateurs ne peuvent pas être validés (i) soit parce qu'ils enregistrent des prévalences et des nombres d'occurrences quasi-nulles pour l'ensemble des élevages (prévalence ≤ 0,06 % ou nombres d'occurrences ≤ 6 ; Immobile, Autre anomalie, Mort, Interagit et Agresse) ; (ii) soit parce que des écarts entre visites sont observés dans certains élevage (Halète, Couché et Explore). Pour ces 3 indicateurs, dont les prévalences ou nombres d'occurrences sont respectivement ≤ 62 % ; ≤ 52 % et ≤ 73, les écarts de mesures entre les 2 visites sont en effet compris entre 0 et 17 points, exceptés pour un élevage qui obtient systématiquement des résultats très différents (El4) et un élevage qui enregistre également des écarts sensibles entre visites pour l'indicateur Couché (El5).

Répétabilité inter-observateurs des indicateurs directs

Les indicateurs Boiteux, Explore, Se toilette et S'étire, Couché et Halète satisfont nos critères de reproductibilité car les résultats des évaluations parallèles des 2 observateurs sont comparables et les valeurs de CCLin atteignent les bornes retenues (Tableau 2). Les indicateurs Explore, Se toilette et S'étire enregistrent des valeurs assez élevées (≤ 26), avec de faibles écarts entre observateurs (83 % des écarts de ± 5 points). Les indicateurs Couché et Halète ont enregistrés les valeurs les plus élévées et la plus forte variabilité (variation des prévalences de 0 à 100% en fonction des élevages et des zones). Les écarts mesurés entre observateurs sont de l'ordre de ± 15 % pour 80 % des zones observées. Les autres indicateurs ne peuvent pas être validés (i) soit parce qu'ils enregistrent des prévalences ou nombres d'occurrences nulles (Petit, Blessé, Mort) ou quasi-nulles (Immobile, Sale, Autre anomalie observés dans 1 ou 2 transects/10 et prévalences ≤ 2 ; Interagit et Agresse pour lesquels le nombre d'occurrences ≤ 4 pour toutes les zones observées) ; (ii) soit parce que des écarts entre visites sont observés dans certains élevage (Yeux sales).

Parmi les 9 indicateurs quantitatifs, pour lesquels l'évaluation était possible (mesure au niveau des zones ou transects et prévalences ou nombres d'occurrences non nulles), 3 (Boiteux, Se toilette, S'étire) ont ainsi été montrées comme répétables au niveau intra et inter observateurs 3 (Petit, Blessé, Yeux sales) comme répétable au niveau intra mais dont la répétabilité inter observateurs restait à améliorer et 3 (Couché, Halète et Explore) comme

répétable au niveau inter mais dont la répétabilité intra restait à améliorer. On suppose que ceci est lié à des conditions climatiques différentes entre visites pour les fermes utilisées pour évaluer la répétabilité intra observateur ou à une différence d'interprétation dans la définition de certains indicateurs pour les fermes utilisées pour évaluer la répétabilité inter observateurs. A l'issue de ce travail, la définition de certains indicateurs, a été précisée, dont les seuils de l'indicateurs Yeux sales, de sorte d'améliorer la fiabilité des indicateurs mesurés.

Sensibilité des indicateurs

Indicateurs quantitatifs : Les résultats montrent que 15 des 16 indicateurs directs (Tableau 3) et 6 des 8 indicateurs indirects (Tableau 4) présentés sont variables.

Indicateurs qualitatifs : Les résultats mettent par ailleurs en évidence une sensibilité élevée de 6 indicateurs indirects pouvant compléter l'évaluation. Certains indicateurs (ex : Intervention) pourraient varier davantage à plus grande échelle et/ou à plus long terme et constituent des pistes de progrès.

La variabilité globale observée pour les indicateurs mesurés est très probablement en deçà de la variabilité observable à l'échelle d'une année et sur l'ensemble des systèmes d'élevages observables à l'échelle nationale. En effet, les 20 fermes sont d'abord plutôt représentatives de la production sous signe officiel de qualité, influençant certains paramètres liés aux cahiers des charges (ex : densité). Les suivis des fermes ne couvrent par ailleurs qu'une saison, soit des amplitudes faibles de variation de température et d'hygrométrie. Les fortes températures extérieures (> 30°C) mesurées lors de certaines visites conduisent en effet à une forte mobilisation des capacités de thermorégulation des animaux pouvant modifier leur comportement. Ce panel d'indicateurs permet de renseigner l'ensemble des critères du bien-être retenus dans le cadre conceptuel d'EBENE®.

Variabilité des scores de chacun des 12 critères de bien-être

Les premiers résultats montrent que la méthode met bien en évidence des écarts de niveaux de bien-être entre les élevages. Sur le panel de 12 critères évalués :

- 2 critères (C6, C9 ; Tableau 5) obtiennent un score moyen très élevé (>4,4) ; et une variabilité modérée (CV de 20% ; Tableau 5) ;
- 5 critères (C1, C3, C7, C8, C10) obtiennent un score moyen élevé (entre 3,6 et 4,1) et une variabilité modérée (CV de 10 à 28%),
- 4 critères (C2, C4, C11, C12), obtiennent un score moyen proche de la moyenne (entre 2,9 et 3,3) et une variabilité supérieure aux précédents (CV de 22 à 72%)
- 1 critère (C5) obtient un score moyen faible (< 1,9) et une variabilité élevée (CV de 66%).

Les scores très élevés observés pour les critères C6 et C9 s'expliquent vraisemblablement par (i) la saison de mesure (mars à juillet), favorisant un bon état de parcours limitant les blessures et boiteries, et (ii) le type de ferme de l'échantillon (ferme du sud-ouest, avec un accès plein-air) limitant les densités animales, connues comme facteur de risque de picage, au profit d'interaction positives entre animaux (Baéza et al., 2003). Le faible score pour le critère C5 pose question pour des animaux majoritairement élevés en plein-air (19 fermes/20). Ce résultat s'explique par la construction du scoring qui prend en compte : (i) la surface de bâtiment disponible autour de l'animal fonction de la densité et du poids des animaux (Surface disponible ; Tableau 1) et (ii) le nombre d'occurrences d'étirements ou battements d'ailes mesurés sur des groupes de canards durant 5 minutes (S'étire).

CONCLUSION

A l'issue de ce travail, la définition de certains indicateurs, dont l'indicateur Yeux sales, a été revue pour augmenter la répétabilité intra-observateurs. Des préconisations complémentaires liées aux conditions climatiques lors des mesures ont été ajoutées : en période de forte chaleur les horaires de visites doivent ainsi être ajustés de sorte d'éviter le moment le plus chaud de la journée (température extérieure >30°C), où les comportements sont susceptibles d'être modifiés. Ce travail a permis de mettre au point et de valider une méthodologie EBENE® spécifique au canard mulard prêt-à-engraisser, adaptée des méthodologies précédemment développées. Les prochaines étapes sont l'extension de l'application smartphone à la production de canards mulards et la mise en place de sessions de formation garantissant la bonne appropriation et application de la méthode sur le terrain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

Baéza, Elisabeth, Chartrin, P., & Arnould, C., 2003. Sciences et Tech. Avicoles, 45, 4-8.

Bignon, L., Mika, A., Mindus, C., Litt, J., Souchet, C., Bonnaud, V., Picchiottino, C., Warin, L., Dennery, G., Guesdon, V., Bouvarel, I., 2017. 12èmes JRA-JRPFG. Tours, France, 1015–1019.

Blokhuis HJ, Veissier I, Miele M and Jones B 2010. Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, 60, 129–140.

De Rosa, G., Tripali, C., Napolitano, F., Saltamacchia, F., Grasso, F., Bisegna, V., Bordi, A., 2003. Anim. Welfare 12, 625–629.

Lensink, B.J., van Reenen, C.G., Engel, B., Rodenburg, T.B., Veissier, I., 2003. Appl. Anim. Behav. Sci. 83, 325–330.

Litt, J., Leterrier, C., Fortun-Lamothe, L., 2020. INRAE Prod. Anim., 33(3), 203–222

Napolitano, F., Grasso, F., Bordi, A., Tripaldi, C., Saltalamacchia, F., Pacelli, C., De Rosa, G., 2005. Italian J. of Anim. Sci. 4, 223–231.

Plesch, G., Broerkens, N., Laister, S., Winckler, C., Knierim, U., 2010. Appl. Anim. Behav. Sci. 126, 19–26.

REMERCIEMENTS :

Nous remercions les éleveurs qui nous ont accueillis pour cette étude, ainsi que le service Data'stats de l'IDELE qui nous a accompagnés dans le choix des analyses statistiques. Une partie de ces données a été collectée par le CEPSO. Ce travail a reçu le soutien financier de FranceAgrimer, du FEDER et du CIFOG.

Tableau 5 *:* Catégorie, description et type/unité des indicateurs retenus mesurés dans les fermes

Principes, critères et indicateurs de bien-être		Description de l'indicateur	Type d'indicateur[2]/ unité
Bonne alimentation	**Accès à une alimentation adaptée**		
	Mangeoires	Longueur de mangeoire disponible par canard	Moyen/Quanti (cm/cd)
	Petit	Taille corporelle réduite par rapport à la taille moyenne des animaux du même âge (environ la moitié de la taille)	Etat/Quanti (%)
	Rationnement	Périodicité moyenne d'alimentation sur toute la vie de l'animal	Moyen/Quanti (h)
	Accès à un abreuvement adapté		
	Abreuvoirs	Nombre de canards par pipette disponible et/ou longueur d'abreuvoir linéaire disponible par animal	Moyen/Quanti (cds/pipette et cm/cd)
	Compteur d'eau[1]	Présence/ absence d'un compteur d'eau dans le bâtiment et utilisation ou non de celui-ci comme indicateur de suivi d'élevage	Moyen/Quali
Environnement adapté	**Confort au repos**		
	Couché	Couché	Etat/Quanti (%)
	Etat du sol	Etat de la litière et/ou du parcours	Etat/Quali
	Sale	Présence de tâches très sombres et bien visibles sur le dos, les ailes ou les plumes de la queue, recouvrant 50% de la surface corporelle	Etat/Quanti (%)
	Yeux sales[1]	Présence de saleté sur au moins 1,5 cm² sur le contour de l'œil	Etat/Quanti (%)
	Lumière nocturne[1]	Conditions lumineuses appliquées la nuit	Moyen/Quali
	Confort d'ambiance		
	Halète	Fréquence respiratoire rapide/haletante avec le bec maintenu ouvert pour la thermorégulation	Etat/Quanti (%)
	Capacité de mouvement		
	Surface disponible	Surface de bâtiment disponible autour de l'animal, prenant en compte la densité et le poids des animaux	Moyen/Quanti
	S'étire	Étend une ou deux ailes, sa patte ou bat des ailes	Etat/Quanti (nb occ)
Bonne santé	**Prévention des blessures et soin des animaux blessés**		
	Blessé	Lésion visible sur le corps ou les ailes (saignement ou plaie ouverte)	Etat/Quanti (%)
	Boiteux	Canard dont un ou les deux membres sont raides ou mal alignés, incapable de se tenir correctement debout	Etat/Quanti (%)
	Prévention des maladies et soins aux animaux malades		
	Immobile	Recroquevillé et prostré, sans mouvement	Etat/Quanti (%)
	Mortalité	Taux de mortalité technique cumulée de 1 jour au moment de la visite	Etat/Quanti (%)
	Infirmerie[1]	Possibilité d'isoler des animaux faibles dans un espace restreint et protégé du reste du lot en leur fournissant de l'eau et de la nourriture	Moyen/Quali
	Bonnes pratiques des interventions sur l'animal		
	Mise à mort	Méthode d'euthanasie d'urgence utilisée à la ferme	Moyen/Quali
	Interventions	Intervention invasive pratiquée sur le bec, les griffes ou une autre partie du corps des animaux	Moyen/Quali
	Autre anomalie	Autre anomalie notable observable sur un animal (déformation, défaut d'emplumement important, …)	Etat/Quanti (%)
Comportement approprié de l'espèce domestiquée	**Comportement du groupe**		
	Interagit	Toilette ou interagit avec un congénère de manière non agressive	Etat/Quanti (nb occ)
	Agresse	Menace ou pique un congénère	Etat/Quanti (nb occ)
	Adaptation aux exigences comportementales de l'espèce domestiquée		
	Explore	Touche avec son bec un élément de son environnement (litière, matériel à fouiller/piquer, objet/végétation à manipuler…)	Etat/Quanti (nb occ)
	Se toilette	Nettoie ses propres plumes avec son bec	Etat/Quanti (nb occ)
	Interagit avec l'eau[1]	Comportements d'aspersion ou d'immersion observables au niveau des points d'eau	Etat/Quali
	Comportement professionnel approprié vis-à-vis de l'animal		
	Distance	Distance à l'observateur à laquelle se positionnent naturellement les animaux	Etat/Quali
	Entrée	Pratiques de l'éleveur à l'entrée dans le bâtiment	Moyen/Quali
	Mort	Trouvé mort lors de la visite	Etat/Quanti (%)
	Formation[1]	Proportion du personnel formé au bien-être animal (formation externe)	Moyen/Quali
	Prévention de stress et de peur		
	Enrichissement	Présence d'enrichissements et utilisation des enrichissements physiques	Moyen/Quali
	Type de parcours	Aménagement du parcours	Moyen/Quali
	Eloignement	Vitesse d'éloignement des animaux à l'approche lente de l'observateur	Etat/Quali
	Réactivité	Ressenti quant au comportement des animaux	Etat/Quali

[1]Indicateur spécifique au canard prêt-à-engraisser ; [2]les indicateurs sont qualifiés d'indicateurs d'état (indicateurs sanitaires et comportementaux) et de moyens (indicateurs liés à l'environnement et aux pratiques d'élevage) et distingués selon leur type quantitatifs ou qualitatifs

Tableau 2. Valeurs et intervalles de confiance (IC) des coefficients de concordance de Lin (CC_{Lin}) mesurant la concordance des données des observateurs 1 et 2

Indicateur	Valeur de CC_{Lin}	IC de CC_{Lin}	Caractère reproductible
Couché	0,92	[0,81 ; 0,97]	*
Yeux sales	0,32	[-0,28 ; 0,75]	
Halète	0,91	[0,79 ; 0,97]	*
Explore	0,83	[0,66 ; 0,92]	*
Se toilette	0,87	[0,7 ; 0,95]	*
S'étire	0,95	[0,87 ; 0,98	*
Boiteux	0,95	[0,82 ; 0,98]	*

** : indicateur dont la valeur de CC_{Lin} est > à 0,7 et dont la borne basse de l'IC CC_{Lin} est > à 0,6*

Tableau 2 : Statistiques descriptives des indicateurs quantitatifs directs mesurés dans les 20 fermes

Indicateur	Moyenne	Minimum	Maximum	Médiane	Ecart-type	CV	Caractère sensible
Petit[1]	0,34	0,00	2,46	0,04	0,72	212,0%	*
Couché[1]	40,96	12,00	94,44	39,00	21,96	53,6%	*
Sale[2]	0,46	0,00	2,96	0,13	0,85	185,7%	*
Yeux sales[2]	1,90	0,00	6,40	1,36	1,85	97,4%	*
Halete[1]	34,56	0,00	76,54	40,48	26,38	76,3%	*
S'étire[2]	6,98	0,48	31,00	3,94	8,33	119,3%	*
Blessé[1]	0,33	0,00	1,48	0,00	0,57	170,6%	*
Boiteux[1]	1,38	0,00	6,05	0,59	1,77	128,8%	*
Immobile[1]	0,09	0,00	1,00	0,00	0,27	287,0%	*
Mortalité[1]	1,92	0,17	7,50	1,10	2,06	107,39	*
Autre anomalie[1]	0,04	0,00	0,40	0,00	0,11	300,7%	*
Interagit[2]	1,70	0,07	7,00	0,69	2,10	123,6%	*
Agresse[2]	0,38	0,00	4,00	0,00	1,06	280,2%	*
Explore[2]	7,24	0,00	27,00	1,96	8,74	120,6%	*
Se toilette[2]	9,99	0,14	53,00	2,21	13,13	131,5%	*
Mort[1]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		

[1]exprimé en % ; [2]exprimé en nombres d'occurrences ; * Indicateur dont l'écart observé entre les valeurs min et max dépassent 10% de la valeur max de l'indicateur (soit un écart > 0,10 pour les indicateurs exprimés sous la forme d'une prévalence)

Tableau 3 : Statistiques descriptives d'une partie des indicateurs indirects mesurés dans les 20 fermes

Indicateur\Statistique	Nb. de modalités	Modalités	Effectif par modalité	Proportion modalité	Caractère sensible
Compteur d'eau	2	Absence d'un compteur dédié	2	0,10	
		Présence d'un compteur dédié	18	0,90	
Lumière nocturne	3	Maintien de la lumière	2	0,10	
		Période obscure	6	0,30	*
		Tamisage	12	0,60	
Interventions	1	Epointage couvoir infra-rouge	20	1,00	
Interagit avec l'eau	4	Animaux qui plongent la tête	6	0,30	
		Animaux qui plongent le bec	5	0,25	*
		Aucune interaction hors abreuvement	8	0,40	
		Comportement d'aspersion	1	0,05	
Formation	2	Pas de formation au BEA suivie en externe	15	0,75	*
		Formation au BEA suivie en externe	5	0,25	
Enrichissements	2	Présence d'1 enrichissement	10	0,50	*
		Présence de 2 enrichissements	10	0,50	
Type de parcours	3	Bâtiment sur prairie ou parcours nu	9	0,45	
		Parcours avec aménagements agroforestiers	10	0,50	*
		Pas de parcours	1	0,05	
Entrée	2	Aucune pratique à l'entrée	6	0,25	*
		1 pratique à l'entrée	14	0,05	

*Indicateur dont au moins 3 modalités sont représentées, ou dont l'effectif par classe est supérieur à 3 dans le cas où l'indicateur ne comporte que 2 modalités

Tableau 4 : Catégorie et caractéristiques des scores obtenus pour chacun des 12 critères pour les 20 fermes

Critère de bien-être	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	CV
C1 - Accès à une alimentation adaptée	3,754	0,398	3,110	4,689	3,750	10,6%
C2 - Accès à un abreuvement adapté	3,112	0,681	2,479	4,556	2,605	21,9%
C3 - Confort au repos	3,821	0,420	2,800	4,491	3,980	11,0%
C4 - Confort d'ambiance	3,187	2,297	0,000	5,000	5,000	72,1%
C5 - Capacité de mouvement	1,897	1,255	0,000	5,000	2,500	66,2%
C6 - Prévention des blessures et soin des animaux blessés	4,498	0,810	2,500	5,000	5,000	18,0%
C7 - Prévention des maladies et soins aux animaux malades	4,060	0,831	3,126	5,000	3,333	20,5%
C8 - Bonnes pratiques des interventions sur l'animal	3,601	0,996	1,000	5,000	4,333	27,7%
C9 - Comportement du groupe	4,463	1,016	2,250	5,000	5,000	22,8%
C10 - Adaptation aux exigences comportementales de l'espèce domestiquée	3,926	0,795	1,667	5,000	3,892	20,2%
C11 - Comportement professionnel approprié vis-à-vis de l'animal	2,910	0,963	1,500	4,667	2,804	33,1%
C12 - Prévention de stress et de peur	3,340	0,802	2,250	4,750	3,375	24,0%

ENRICHISSEMENT DU MILIEU DE VIE DES CANARDS DE BARBARIE : EFFET SUR LEUR COMPORTEMENT EXPLORATOIRE

Ruel Baptiste, Chevalier Denis, Faouën Anaëlle

MG2MIX - La Basse Haye - 35220 CHATEAUBOURG

b.ruel@mg2mix.fr

RÉSUMÉ

L'épointage, qu'il soit réalisé au couvoir ou en élevage, est la méthode préventive utilisée pour limiter les conséquences du picage. Cependant, cela ne permet pas d'empêcher son apparition sporadique. Cet essai a pour objectif de mesurer l'effet de 3 enrichissements physiques sur le comportement exploratoire des canards. 1630 canards mâles de souche ST6C élevés en 77 jours ont été répartis aléatoirement par groupes de 40 ou 41 dans les trois régimes (six répétitions/régime) : paille (P), botte de luzerne (L) et témoin (T). Pour imiter de potentiels oublis d'épointage, un canard par case n'a pas été épointé. Les enrichissements ont été installés à 24 jours. Les données sur le comportement exploratoire des canards des régimes (P) et (L) ont été comparés à (T). L'observation du comportement exploratoire des canards a été réalisée toutes les semaines de 35 jours à 63 jours. Sur la totalité de l'essai, les canards des régimes (L), (P) et (T) ont respectivement passé 6.8%, 4.2% et 1.7% de la durée des observations à explorer leur milieu de vie avec une exploration statistiquement plus importante pour le régime (L) par rapport à (T) ($p<0.05$). Cette étude met en évidence un effet positif de l'enrichissement luzerne sur le comportement exploratoire des canards et l'intérêt d'alterner les enrichissements au cours de la vie du canard. En se basant sur l'hypothèse que le picage est une redirection du comportement exploratoire du canard, il serait intéressant de mesurer les différences de picage en présence ou non d'enrichissement de milieu.

ABSTRACT

Environmental enrichment in Muscovy ducks : impact on the feather pecking, the exploratory behavior and the zootechnical performances

Beak trimming, performed in the hatchery or on the farm, is the preventive method used to limit the feather pecking, However, it cannot prevent from its sporadic appearance. The aim of this trial is to measure the effect of 3 physical enrichments on the exploratory behaviour of Muscovy ducks. 1630 male ducks of the ST6C strain reared in 77 days were randomly allocated in groups of 40 or 41 to the three diets (six replicates/diet): straw (P), alfalfa bunch (L) and control (T). To mimic potential omissions of beak trimming, one duck per pen was not beak trimmed. The enrichments were installed at 24 days. Data on exploratory behaviour of ducks in the (P) and (L) diets was compared to (T). Observation of exploratory behaviour of the ducks was performed weekly from 35 days to 63 days. Over the whole trial, ducks on the (L), (P) and (T) diets spent respectively 6.8%, 4.2% and 1.7% of the observation time exploring their living environment, with a statistically higher exploration for the (L) diet compared to the (T) diet ($p<0.05$). This study shows a positive effect of alfalfa enrichment on the exploratory behaviour of ducks. Nevertheless, its value in combating pecking remains to be clarified. Based on the hypothesis that pecking is a redirection of the duck's exploratory behaviour, it would be interesting to measure the differences in pecking in the presence or absence of enrichment.

INTRODUCTION

Chez les volailles, le picage (action de piquer un congénère avec ou sans arrachage des plumes (Bestman et Wagenaar, 2003)) est un problème récurrent dans les élevages commerciaux. Les premières études sur ce phénomène remontent à 1931 chez la poule pondeuse (Carver, 1931) et 1962 chez le canard de barbarie (Snyder, 1962). Malgré le nombre important d'études effectuées sur ce phénomène (la presque totalité sur les poules pondeuses), il est encore très mal compris et seules des hypothèses sont émises pour tenter de l'expliquer. Lorsque ce phénomène apparaît, l'efficience alimentaire des animaux piqués diminue et l'ingestion nécessaire au maintien de leur température corporelle augmente (Bennett et al., 2016). Ces modifications entraînent d'importantes pertes économiques pour l'éleveur, très difficiles à estimer tant ce comportement est complexe (De Haas et al., 2013). Sans une intervention préventive et dans l'état actuel des connaissances, le picage semble donc inévitable en élevage (Sauveur et De Carville, 1990).

A l'heure actuelle, l'épointage est la méthode préventive utilisée quasi-systématiquement dans tous les élevages de canards de Barbarie français. Elle consiste à retirer le culmen, partie supérieure du bec, et permet de réduire la gravité des dommages infligés lorsqu'un oiseau picore les plumes ou la peau d'un congénère. Deux techniques sont utilisées, le traitement infrarouge effectué au couvoir et le traitement aux ciseaux réalisé en élevage. Cependant, l'épointage ne permet pas d'inhiber totalement le phénomène, provoque des douleurs à court et long terme pour les animaux (Gustafson et al., 2007) et peut porter atteinte à leur bien-être.

A l'heure actuelle, l'hypothèse expliquant ce phénomène de picage la plus souvent défendue est celle d'un comportement exploratoire de recherche alimentaire. Dans ce sens, nous nous sommes intéressés à l'effet que pouvait avoir différents enrichissements sur le comportement exploratoire des canards.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

1632 canards de Barbarie mâles d'un jour ont été pesés et répartis aléatoirement dans 40 cases sans interaction possible entre les cases. Ainsi, 32 cases de 41 canards (10,8 individus/m²) et 8 cases de 40 canards (10,5 individus /m²) ont été constituées. Ces canetons ont préalablement été vaccinés contre le parvovirus au couvoir et ont reçu le rappel du vaccin à J16, avec un dégriffage effectué le même jour. Le bec des canards a été épointé en élevage à 16 jours en laissant 1 canard par case au bec non épointé.

Les enrichissements de milieu testés ont été choisis à partir des recherches bibliographiques mettant en avant que le picage soit dû à la redirection d'un comportement naturel de recherche alimentaire. Comme le canard utilise son bec innervé, site de récepteurs sensoriels (Pingel et al., 2013) pour toucher, fouiller, trier ou arracher ses aliments, il a été décidé d'utiliser des enrichissements friables, facilement attrapables et arrachables par les canards. Ces critères ont été choisis pour que les canards puissent suivre au maximum leur comportement naturel. Les enrichissements retenus ont été : 1) de la paille et 2) une botte de luzerne.

1.2. Mise en place des enrichissements

Les enrichissements choisis ont été notés comme (Figure 1) :

- Témoin (T), sans enrichissement.

- Paille (P), correspondant à l'ajout d'une litière de paille (provenant de bottes carrées de 12 kg récoltées sur l'exploitation. Les cases ont été paillées entièrement à J24 avec 2,5 kg de paille par case puis repaillées tous les deux jours avec 500 g. Les cases ont été intégralement curées à J30 puis repaillées avec 250 g de paille entre la mangeoire et l'abreuvoir seulement jusqu'à la fin du lot. Les cases ont ensuite été curées une fois par semaine. 6 cases ont été équipées avec de la paille.

- Luzerne (L), enrichissement avec une botte de luzerne déshydratée coupée en petits brins de 3 à 5 cm et placée dans un filet à foin. La botte a été suspendue à 5 cm de hauteur jusqu'à J36 ; à 25 cm jusqu'au 59ème jour ; puis 50 cm jusqu'à l'abattage des canards. 6 cases ont été équipées avec de la luzerne.

Tous les enrichissements ont été maintenus de J24 à l'abattage des canards.

1.3. Les mesures d'évaluation du comportement exploratoire

Le comportement exploratoire des canards a été observé dans trois cases de chaque régime T, P et L choisies au hasard. Les observations ont été réalisées trois fois par semaine de la 5ème à la 9ème semaine d'élevage. Chaque case a été observée une seule fois par semaine soit une case de chaque régime par jour. L'ordre de passage des cases a été choisi aléatoirement. Les cases choisies pour le régime témoin sont les cases 7, 29 et 35, pour le régime paille, les cases 8, 30 et 36 et pour le régime luzerne, les cases 6, 28 et 34. La durée nécessaire entre l'installation devant la case pour les observations et le retour aux comportements naturels des animaux en présence de l'observateur a été déterminée par des tests préalables. Elle a été établie à 10 min, ainsi, les observations ont débuté 10 minutes après l'installation de l'observateur devant la case.

Quatre canards par case choisis aléatoirement ont été observés un à un pendant 10 minutes et les comportements répertoriés dans l'éthogramme présenté dans le tableau 1 ont été notés lorsqu'ils

étaient réalisés par le canard. La durée de réalisation de chaque comportement présenté dans l'éthogramme a été mesurée par des observations préalables. L'objectif a été de déterminer la durée minimale nécessaire entre deux comportements pour considérer le premier comme terminé. Par exemple : un canard pique la luzerne, pique le matériel puis pique à nouveau la luzerne, si le temps entre les deux comportements « luzerne » est inférieur à 20 secondes, alors le comportement « matériel » n'est pas pris en compte. En revanche, s'il s'écoule plus de 20 secondes entre les deux comportements « luzerne » alors le comportement « matériel » est pris en compte.

1.4. L'évaluation statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel R. Les durées d'exploration entre les différents enrichissements ont été comparées par analyse de variance.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les performances zootechniques ont été relevé à chaque transition alimentaire sur la totalité de l'essai et ne montrent aucune différence entre les enrichissements.

2.1. L'évolution du comportement exploratoire

L'exploration globale des canards, tous régimes confondus, a diminué au cours du lot. Elle est passée de 6,2% du temps d'observation la 5ème semaine à 1,9 % la 9ème semaine. Pour expliquer cette baisse d'exploration, deux hypothèses ont été émises : la première pourrait être liée à la croissance des canards, les rendant moins mobiles et diminuant leur espace pour se mouvoir et la seconde pourrait être liée à une lassitude des canards pour ces enrichissements.

2.1.1 L'exploration du régime témoin

La durée d'exploration du milieu de vie des canards du régime témoin a augmenté entre les semaines 5 et 7 passant de 2,0% du temps d'observation passé à 2,8%. L'exploration a ensuite diminué fortement : 0,2% du temps d'observation passé à explorer la 8ème semaine puis il a stagné jusqu'à la 9ème semaine (Figure 2).

2.1.2. L'exploration du régime paille

La durée d'exploration du milieu de vie des canards a diminué au cours du lot. Elle est passée de 6,7% du temps d'observation passé à explorer à 5 semaines à 2,6% du temps la semaine 9. Entre la 6ème et 7ème semaine et la 7ème et 8ème semaine, le temps d'exploration est passé de 4,7% du temps d'observation passé à explorer à 3,1% (Figure 2).

2.1.3. L'exploration du régime luzerne

L'exploration du milieu de vie des canards du régime luzerne a diminué fortement entre la 5ème et la 6ème semaine d'observation passant de 9,8% du temps d'observation passé à explorer à 7,1%. Cette exploration a ensuite diminué légèrement jusqu'à la 8ème semaine à 6,1% du temps. Elle a ensuite chuté à 2,6% du temps la semaine 9 (Figure 2).

2.1.4. L'exploration tous régimes confondus

L'enrichissement du milieu de vie des canards semble avoir permis de favoriser le comportement exploratoire. Sur la totalité de l'essai, les canards des régimes (L), (P) et (T) ont respectivement passé 6.8%, 4.2% et 1.7% de la durée des observations à explorer leur milieu de vie avec une exploration statistiquement plus importante pour le régime (L) par rapport à (T) ($p<0.05$). Ce résultat est en accord avec certains auteurs qui montrent que l'ajout d'une botte de fourrage offre un micro-environnement aux canards, pouvant être perçu comme plus sûr, augmentant la sensation de confort et donc les comportements naturels des volailles (Daigle et al., 2014). La botte de luzerne semble être la plus adaptée au comportement alimentaire spécifique du canard de barbarie dans son état naturel, favorisant leur comportement explorateur (Pingel et al., 2013). En comparaison, les canards du régime paille ont passé moins de temps à explorer leur milieu de vie que ceux du régime luzerne mais plus que ceux du régime témoin. La paille ne semble pas avoir était utilisée à des fins de recherches alimentaires comme en était l'objectif. En effet, l'exploration des canards vers la paille était réelle quelques minutes après le paillage quotidien puis diminuait rapidement pour devenir un simple lieu de repos pour les canards.

CONCLUSION

L'enrichissement de l'environnement destiné à favoriser les comportements de recherche de nourriture semble augmenter le temps d'exploration des canards. Les observations effectuées permettent d'observer une diminution globale de l'exploration au fil du temps et des tendances d'explorations plus fortes pour les canards dans un milieu de vie enrichi notamment avec de la luzerne. Il serait intéressant d'étudier une potentielle corrélation avec le phénomène de picage. Les données obtenues à la suite des observations montrent un intérêt plus fort des canards pour les bottes de luzerne. Cette étude met en avant que l'intérêt des animaux pour un enrichissement diminue avec le temps et qu'il est préférable de les alterner sur la durée de l'élevage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bennett RM, Jones PJ, Nicol CJ, Tranter RB et Weeks CA, 2016. Consumer attitudes to injurious pecking in free range egg production. Animal Welfare 25, 91–100.

Bestman MWP, Wagenaar J-P, 2003. Farm level factors associated with feather pecking in organic laying hens. Livestock Production Science 80, 133–140.

Carver JS, 1931. The control of cannibalism in battery brooders and fattening batteries. Poultry Science 10, 275–277.

Daigle CL, Rodenburg TB, Bolhuis JE, Swanson JC et Siegford JM, 2014. Use of dynamic and rewarding environmental enrichment to alleviate feather pecking in non-cage laying hens. Applied Animal Behaviour Science 161, 75–85.

De Haas EN, Kemp B, Bolhuis JE, Groothuis T et Rodenburg TB, 2013. Fear, stress, and feather pecking in commercial white and brown laying hen parent-stock flocks and their relationships with production parameters. Poultry Science 92, 2259–2269.

Gustafson LA, Cheng H-W, Garner JP, Pajor EA et Mench JA, 2007. Effects of bill-trimming Muscovy ducks on behavior, body weight gain, and bill morphopathology. Applied animal behaviour science 103, 59–74.

Pingel H, Guy G et Baéza E, 2013. Comportement des canards. In Production de canards, pp. 63–78. Editions Quae, Versailles, FR.

Sauveur B et De Carville H, 1990a. Méthodes d'élevage des canards de Barbarie en croissance. In Le Canard de Barbarie : ouvrage collectif, Du labo au terrain, pp. 53–66. INRA, Paris, FR.

Snyder ES, 1962. Market Possibilities and Yields of Muscovy Ducks Dressed at Various Ages. Poultry Science 41, 813–818.

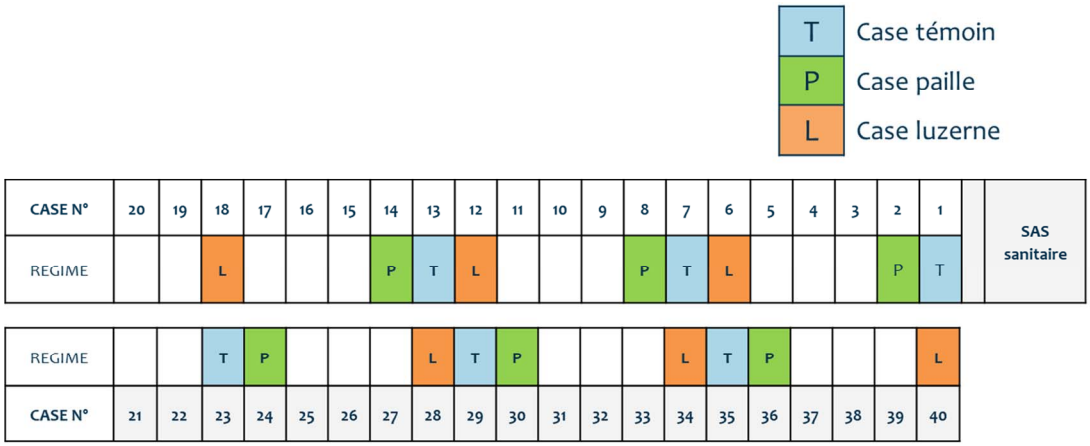


Figure 1 : Schéma expérimental de la répartition des enrichissements dans l'élevage

Tableau 1. Ethogramme des comportements à noter durant l'observation des comportements exploratoires. La durée des comportements correspond au temps minimum durant laquelle le comportement doit être réalisé pour qu'il soit considéré sans l'étude.

Comportement	Définition	Durée minimale des comportements (en secondes) pour qu'il soit comptabilisé
Paille	Le canard picore, gratte ou fouille dans la litière de paille	15
Luzerne	Le canard picore, gratte ou fouille dans la botte de luzerne	15
Congénères	Le canard pique les plumes ou le corps d'un congénère.	10
Matériels	Le canard pique les abreuvoirs, les mangeoires, les caillebotis, ou les murs de la case	20

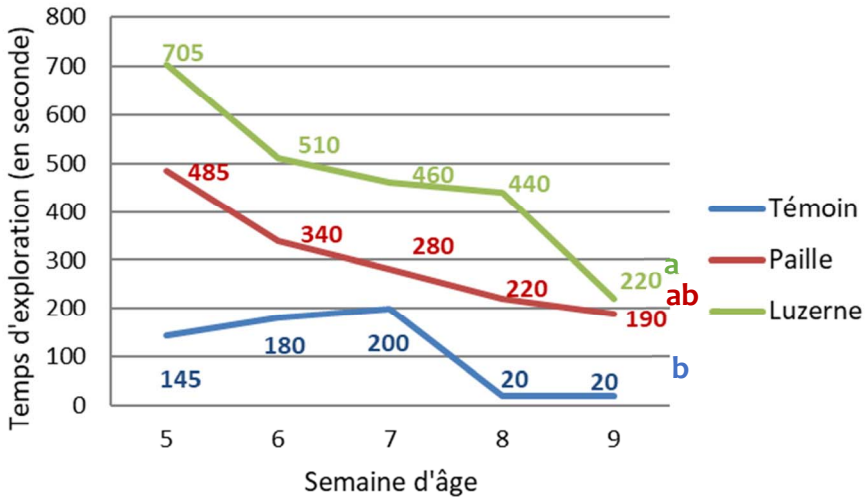


Figure 2. Évolution du temps d'exploration de chaque régime par semaine (7200 secondes d'observations par régime par semaine). *Les données suivies d'une lettre différente sont significativement différentes au seuil 5%.*

EFFET DE LA SOUCHE ET DE LA DENSITE SUR LE COMPORTEMENT ET LA SANTE DU POULET DE CHAIR ELEVE EN LUMIERE NATURELLE AVEC DES ENRICHISSEMENTS

Mignon-Grasteau Sandrine[1], Warin Laura[2], Mabille Léane[1], Méda Bertrand[1], Moysan Jean-Philippe[3], Le Bihan-Duval Elisabeth[1], Bouvarel Isabelle[2], Mocz Frédérique[4], Guinebretière Maryse[4]

[1]INRAE - Université de Tours - BOA, - 37380 NOUZILLY - France
[2] Institut Technique de l'Aviculture - 37380 NOUZILLY - France
[3] SELEAC - ANSES - 22440 PLOUFRAGAN - France
[4] EPISABE – ANSES - 22440 PLOUFRAGAN - France
sandrine.grasteau@inrae.fr

RÉSUMÉ

La filière avicole souhaite améliorer le bien-être des poulets de chair en système claustré tout en maîtrisant les surcoûts économiques. Les effets de changements génétiques ou d'une baisse de la densité sur le comportement et l'état sanitaire des poulets ont été évalués dans cette étude, qui a porté sur 6 génotypes de poulets présentant différentes vitesses de croissance (du JA757 à 42 g/j au Ross 308 à 61 g/j), élevés en lumière naturelle, à densité « classique » (39 kg/m²) ou réduite (30 kg/m²), avec des enrichissements de milieu (bloc à piquer, ballots de paille ou de luzerne). Le comportement des animaux a été observé par scan sampling, 6 fois par jour pendant 9 à 13 jours sur toute la durée d'élevage. Pododermatites, brûlures du tarse et qualité de la marche ont été évaluées sur 160 animaux par traitement la veille de l'abattage (à un poids d'environ 1,95 kg, soit à l'âge de 31 à 45 j selon les génotypes). Par rapport au Ross 308, les 2 souches à croissance plus lente (JA757 et JA787) présentaient deux fois plus d'animaux debout (30 vs 14%), en déplacement (9 vs 5%) ou explorant l'environnement (14-15 vs 9%) sur l'ensemble de la période d'élevage. Les Ross 308 se perchaient moins (1,6 vs. 3%) et picoraient moins les enrichissements (0,2 vs. 0,3-0,5%) que les autres souches. A densité élevée, la présence le long des enrichissements baisse (2,9 vs. 3,3%) et la proportion de poulets inactifs est plus élevée (63,9 vs. 62,4%). La qualité de la marche est fortement dégradée pour les Ross 308 (54% des animaux à démarche normale) par rapport aux souches à croissance plus lente (>85% des animaux à démarche normale). A densité réduite et aux vitesses de croissance les plus lentes, il y avait moins de pododermatites (4 vs. 21%) et de brûlures de tarses (18 vs. 37%). Ces résultats confirment que la réduction de la vitesse de croissance couplée à une densité d'élevage plus faible sont deux options pertinentes pour améliorer le bien-être animal des poulets élevés en claustration.

ABSTRACT

BEHAVIOUR AND HEALTH OF BROILER CHICKEN DEPENDING ON GENOTYPE AND STOCKING DENSITY

The poultry production sector wants to improve welfare of broilers reared in claustration while controlling additional charges. The effects of genetic changes or of a reduction of stocking density on behaviour and health status of chickens have been evaluated on 6 genotypes with various growth rates (from 42 g/d for JA757 to 61 g/d for Ross 308), reared with natural light, at "classical" (39 kg/m²) or reduced (30 kg/m²) density, with access to enrichments (pecking blocks, straw/alfalfa bales). Animal behaviour was observed by scan sampling, 6 times a day during 9 to 13 d over the whole rearing period. Pododermatitis, hock burns and gait score were assessed on 160 birds per treatment the day before slaughter (at a weight around 1.95 kg, i.e. between 32 and 46 d depending on genotype). Compared to Ross 308 birds, the 2 genotypes with the lowest growth rates (JA757, JA787) had twice more birds standing (30 vs 14%), moving (9 vs 5%) or exploring the environment (14-15 vs 9%) over the whole rearing period. The Ross 308 perched less (1.6 vs 3%) and pecked less the enrichments (0.2 vs 0.3-0.5%) than the other genotypes. At high density, fewer birds were present along the enrichments (2.9 vs 3.3%) and the proportion of inactive birds was higher (63.9 vs 62.4%). Gait score was severely impaired for the Ross 308 (54% of birds with a normal gait) compared to the other genotypes with slower growth (>85% of birds with a normal gait). At low density and for the slowest growth rates, we observed less pododermatitis (4 vs 21%) and hock burns (18 vs 37%). These results confirm that reducing growth rate and stocking density are two relevant options to improve animal welfare for chickens reared in claustration.

INTRODUCTION

Mis en place depuis la seconde moitié du XX^{ème} siècle pour faire face à une demande en viande croissante, les schémas de sélection et le mode d'élevage du poulet standard se sont largement concentrés sur l'amélioration des performances de croissance, l'efficacité alimentaire et le rendement en filet. Si ces progrès ont permis des coûts de production optimisés, ils ont aussi été accompagnés de modifications morphologiques, physiologiques ou comportementales, et d'une dégradation de certains indicateurs du bien-être comme l'activité physique des animaux. Ainsi, Dawson *et al.* (2021) ont montré qu'à 26 jours, les poulets à croissance rapide étaient debout 5,3% du temps et marchaient 2,1% du temps, contre respectivement 11,9% et 4,9% pour les poulets à croissance lente. Cette activité locomotrice réduite et le temps passé couché sont également défavorables à la santé des animaux car ils favorisent le développement de dermatites de contact.

L'environnement d'élevage standardisé et optimisé pour maximiser l'expression du potentiel génétique de production et maitriser les risques sanitaires, limite quant-à-lui l'expression de certains comportements naturels des oiseaux. Ainsi, l'absence d'accès au plein air ou a minima à la lumière naturelle, une forte densité d'élevage et l'absence d'enrichissements du milieu sont associés à une plus faible activité, une moindre qualité de litière et des problèmes de santé plus fréquents, notamment au niveau des pattes (Hongchao *et al.*, 2013 ; de Jong et Gunnink, 2019 ; Weimer *et al.*, 2020).

L'objectif de cette étude était d'identifier des voies d'amélioration du système de production standard grâce à un changement des génétiques utilisées ou des pratiques. Ainsi, un éventail de 6 souches, allant du Ross 308 (le plus couramment utilisé en production standard) à la souche certifiée JA757 en passant par quatre souches intermédiaires en termes de croissance (Redbro, Rustic Gold, Ranger Classic, et JA787) a été caractérisé pour de nombreux indicateurs de comportement et de santé. Concernant les pratiques, cet essai s'est d'ores et déjà placé dans des conditions d'accès à la lumière naturelle et à des enrichissements de milieu, mais les animaux ont été élevés à densité classique (39 kg/m²) ou plus réduite (30 kg/m²).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et traitements

L'essai a porté sur un total de 12576 poussins mâles et femelles issus de 6 génotypes différant par leur gain de poids quotidien théorique : la souche à croissance rapide de référence Ross 308 (60,5 g/j), 4 souches à croissance intermédiaire qui pourraient représenter un compromis intéressant entre les critères de production et de bien-être (Redbro, 49,0 g/j ; Rustic Gold, 48,5 g/j ; Ranger Classic, 46,7 g/j ; JA787, 46,1 g/j) et une souche témoin à croissance plus lente (JA757, 42,4 g/j). Cette dernière souche de type certifié est un point de comparaison important pour les caractères de comportement et de santé en tant que référence pour l'accréditation RSPCA. Les animaux ont été répartis en 48 parquets de 18 m², 4 par génotype à densité « classique » (39 kg/m²) et 4 par génotype à une densité réduite de 25% (30 kg/m²), soit un total de 12 traitements. Pendant toute la durée de l'expérience, les animaux ont eu accès à la lumière naturelle (8-19 h), complétés par un éclairage artificiel garantissant 18 h de lumière à 30 lux par jour à partir de 6 j. L'accès à la lumière était assuré par des fenêtres de 90×30 cm situées au-dessus de chaque parquet. L'objectif étant d'abattre les animaux autour de 1,95 kg, les génotypes ont été abattus à des âges différents en fonction de leur vitesse de croissance (Ross 308 : 32 j ; JA787, Rustic Gold, Redbro, Ranger Classic, JA787 : 39 j ; JA757 : 46 j). Tous les animaux ont été nourris *ad libitum* avec des aliments conformes aux besoins de la souche la plus exigeante (Ross 308), afin de ne pas introduire d'autres effets que la densité et la génétique dans l'évaluation des critères de santé et de comportement, ainsi que des performances et de la qualité de la viande (cf. Méda *et al.*, 2022).

La litière était composée de 1,1 kg/m² de sciure de bois. A J18 pour tous les parquets de Ross 308 et à J26 pour un parquet de JA757, 10 kg de litière ont été enlevés sous les pipettes et remplacés par de la litière fraîche. A J27, 10 kg de litière fraîche ont été ajoutés aux parquets de Ross 308, sans enlever la litière déjà présente. Les enrichissements de milieu comportaient une balle de paille (30 cm de hauteur), deux balles de luzerne superposées (60 cm de hauteur), un bloc à piquer de 8 kg (12,5 cm de hauteur) et un peson automatique (5-10 cm de hauteur, Figure 1).

1.2. Observations du comportement

Le comportement des animaux a été observé à partir d'enregistrements vidéo de caméras placées au-dessus des parquets, par scan sampling sur 9 à 13 jours selon l'âge d'abattage, avec 6 scans par jour (2 le matin à l'allumage de la lumière, 2 en milieu de journée, 2 le soir avant l'extinction de la lumière), pour 2 parquets par traitement (densité × génotype).

L'utilisation des enrichissements a été évaluée par le nombre d'animaux présents le long des ballots, du bloc à piquer ou de l'ensemble bloc+ballots, du nombre d'animaux picorant les ballots, le bloc à piquer ou de l'ensemble bloc+ballots et du nombre d'animaux perchés sur les ballots, le bloc à piquer, le peson ou l'ensemble bloc+peson+ballots. Les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre d'animaux présents dans le parquet.

L'activité générale des animaux (hors alimentation et abreuvement) a été enregistrée sur la zone d'activité (Figure 1), qui correspondait à une zone non encombrée, sans enrichissement, sans abreuvoir et sans mangeoire. Les comportements enregistrés

étaient : debout immobile, se déplace, se toilette (debout ou couché), explore l'environnement en grattant le sol ou en picotant (debout ou couché), couché et inactif, s'étire une patte (debout ou couché), bat des ailes, fait un bain de poussière et interactions sociales (positives ou négatives). Les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre d'animaux présents dans la zone d'activité.

1.3. Mesures de santé et de comportement

La veille de l'abattage, les pododermatites, les brûlures de tarse et la qualité de la démarche ont été évaluées sur un échantillon de 160 animaux par traitement. Les pododermatites et brûlures de tarse étaient notées de 0 (absence) à 2 (sévère). La démarche était notée de 0 à 2 (0 = démarche normale, agile, avec ou sans déséquilibre, 1 = avance plus d'1,50 m mais avec une difficulté à marcher, en boitant, 2 = boiterie sévère, empêchant le déplacement de plus d'1,50 m).

1.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques des données de comportement ont été réalisées par analyse de variance (proc GLM, SAS9.4, ©2016). Les génotypes ayant des vitesses de croissance très différentes, nous avons pris en compte l'âge des animaux en intégrant dans le modèle un « âge » relatif égal au ratio entre le poids à l'âge étudié par rapport au poids à l'abattage. Le modèle d'analyse était le suivant :

$$y_{ijklm}=\mu + G_i + D_j + GD_{ij} + M_k + AR_l + e_{ijklm}$$

où y_{ijklm} est le comportement observé dans le parquet m, μ la moyenne générale, G_i l'effet fixe du génotype i, D_j l'effet fixe de la densité j, GD_{ij} l'interaction entre le génotype i et la densité j, M_k le moment de la journée (matin, midi, soir), AR_l la covariable d'âge relatif l et e_{ijklm} le résidu du modèle pour le parquet m.
Les effets du génotype et de la densité d'élevage sur les proportions d'animaux présentant les scores les plus faibles de pododermatites, de brûlures de tarse et le meilleur score de qualité de la démarche ont été analysés par des tests de χ^2.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les proportions de poulets qui se toilettent (1,5 % des animaux), s'étirent (8,3 % des animaux), battent des ailes (0,4 %), interagissent (0,6 %) et font des bains de poussière (0,2 %) ne sont pas affectées par la densité et par la souche. Ces proportions sont du même ordre de grandeur que ceux relevés dans la littérature, y compris à des densités plus faibles que dans notre étude (Dixon, 2020 ; Drozdova et al., 2021). Certains de ces comportements sont de courte durée, ce qui les rend difficilement observables par scan. Par exemple, les bains de poussières sont rarement exprimés, leur durée étant estimée à environ 15 minutes par jour (Vestergaard, 1982), ce qui peut expliquer qu'aucun effet n'ait été détecté pour ces comportements.

Les résultats pour les variables comportementales avec au moins un effet significatif sont présentés dans le Tableau 1.

2.1. Utilisation des enrichissements

L'effet du génotype est significatif pour toutes les variables d'utilisation des enrichissements, sauf pour la présence le long des ballots (P=0,053) et la présence le long de l'ensemble des enrichissements. Hormis pour la présence le long du bloc à piquer, les Ross 308 utilisaient moins les enrichissements que les autres génotypes. En particulier, aucun animal de ce génotype n'a été observé sur les balles de paille et de luzerne, dont la hauteur était peut-être trop élevée pour leur permettre de se percher facilement. A l'inverse, les animaux JA757, JA787, Ranger Classic et RedBro étaient plus fréquemment perchés (3,6-3,9 %) que les Rustic Gold (3,1 %) et les Ross 308 (1,6 %). Les JA757 et JA787 picoraient plus les enrichissements que les autres génotypes (0,7% vs 0,2-0,5 %), les Ranger Classic et Redbro présentant des valeurs intermédiaires.
L'effet de la densité est significatif pour le perchage sur le bloc à piquer et sur l'ensemble des enrichissements, ainsi que pour la présence d'animaux le long du bloc, des ballots ou de l'ensemble des enrichissements. A densité réduite, le pourcentage d'animaux présents le long des enrichissements est 0,3% plus élevé qu'à densité « classique », et on observe 0,2 % d'animaux en plus perchés sur les enrichissements, en particulier sur le bloc à piquer. Cette moindre densité des animaux le long des enrichissements ne peut être attribuée à un manque de place pour se percher sur les enrichissements. En effet, le nombre d'animaux utilisant les enrichissements à densité élevée (dans les parquets comptant un plus grand nombre d'animaux) est supérieur au nombre qui les utilisent dans les parquets à faible densité.
Enfin, il existe une interaction entre génotype et densité d'élevage pour le perchage sur le peson et le perchage sur l'ensemble des enrichissements. Dans tous les cas, la souche JA787 se perche plus que les Ross 308 (peson et enrichissements). Elle se perche également plus sur le peson que la souche JA757 quelle que soit la densité, et plus que la souche Rustic Gold à densité élevée. Enfin, les JA787 se perchent plus sur l'ensemble des enrichissements que les Rustic Gold quelle que soit la densité, et plus que les JA757 à densité faible.

2.2. Activité générale des animaux

L'effet du génotype est significatif sur le nombre d'animaux debout, explorant l'environnement, inactifs et en déplacement. Le niveau d'activité générale suit globalement un gradient inverse à la vitesse de croissance des animaux (cf. Méda *et al.*, 2022 pour les résultats sur la croissance). Les génotypes JA757 et JA787 présentent globalement plus d'animaux debout,

explorant l'environnement ou en déplacement et moins d'animaux inactifs, la différence allant de 17% d'animaux inactifs en moins à 2,2 fois plus d'animaux debout que pour le Ross 308. Les génotypes Redbro, Rustic Gold et Ranger Classic présentent 11 à 85% en plus d'animaux debout, explorateurs ou en déplacement et 7 à 14% d'inactifs en moins que les Ross 308, le génotype Ranger Classic présentant des valeurs assez proches de celles des JA757 et JA787.
L'effet d'une réduction de 25% de la densité n'est significatif que sur le taux d'animaux inactifs et en déplacement. A densité réduite, nous avons observé 2% de moins d'animaux inactifs et 0,2% d'animaux en déplacement en plus qu'à densité classique. La densité réduite favorise donc les déplacements des animaux. Enfin, il n'y a pas eu d'effet de la densité sur le pourcentage d'animaux debout ou explorant l'environnement.

2.3. Santé et bien-être

Quel que soit le génotype, la réduction de la densité a fortement amélioré l'état des pattes. A 30 kg/m² en effet, on observe environ 18% de scores 0 en plus sur les pododermatites et sur les tarses qu'à 39 kg/m² (Tableau 2). La qualité de la démarche a également été améliorée en réduisant la densité, sauf pour les génotypes Ranger Classic et JA757, pour lesquels les score de démarche étaient très bons quelle que soit la densité.
Les poulets de génotype JA757 et Ranger Classic avaient 2,1 à 3,3 fois moins de pododermatites et 1,4 à 1,7 fois moins de brûlures de tarses que les génotypes Redbro et Ross 308 (Tableau 2). Les poulets Rustic Gold avaient peu de pododermatites, comme les JA757 et Ranger Classic, mais présentaient davantage de brûlures de tarses. A l'inverse, les poulets JA787 présentaient peu de brûlures de tarses comme les JA757 et Ranger Classic, mais plus de pododermatites. On associe les pododermatites plutôt à une mauvaise qualité de litière (liée à de multiples facteurs) et les brûlures de tarse à un contact prolongé avec la litière pour les animaux peu actifs (Dawkins *et al.*, 2013). Cela est cohérent avec le fait que les génotypes JA757/JA787 et Ranger Classic, qui présentaient très peu de démarches anormales, sont également les plus actifs. En revanche, les poulets Ross 308 avaient très généralement une démarche déséquilibrée, non observée chez les autres génotypes. Les souches Rustic Gold et Redbro avaient des résultats intermédiaires de démarche.

CONCLUSION

Nos résultats montrent que la vitesse de croissance est l'élément principal qui distingue les animaux sur leur activité physique et leur utilisation des enrichissements, plus importante dans les souches à vitesse de croissance les plus faibles. Une réduction, même modérée, de la vitesse de croissance améliore donc ces paramètres. La réduction de la densité de 39 à 30 kg/m² améliore principalement l'état des pattes et permet également de favoriser l'activité physique et l'utilisation des enrichissements. Si coupler ces deux facteurs offre des possibilités d'améliorer le bien-être des animaux, les conséquences sur les performances économiques et le lien avec la qualité du produit (voir Méda *et al*., 2022) doivent être intégrés pour voir comment concilier attentes sociétales et consentement à payer.

REMERCIEMENTS

Cette étude, réalisée dans le cadre des UMT BIRD et SANIVOL, a été financée par le fonds CASDAR (projet n°20AIP1619988 COCORICO), le CIPC et le SYNALAF. Les auteurs remercient les sociétés Hubbard et Aviagen pour la mise à disposition de leurs souches, et le personnel de l'unité expérimentale ANSES (SELEAC) pour le suivi expérimental.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dockès A.C., Delanoue E., Chouteau A., Philibert A., Magdelaine P., Roguet C., 2017. In : 12èmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 05-06/04/2017.
de Jong I.C., Gunnink H., 2019. Animal, (13), 384-391.
Dawkins M.S., Cain R., Merelie K., Roberts S.J., 2013. Appl. Anim. Behav. Sci., (145), 44-50.
Dawson L., Widowski T.M., Liu Z., Edwards A.M., Torrey S., 2021. Poult. Sci., (100), 101451.
Dixon L., 2020. Plos One, (15), e0231006.
Drozdova A., Kankova Z., Bilcik B., Zeman M., 2021. Czech J. Anim. Sci., (66),412-419.
Honchao J., Jiang Y., Song Z., Zhao J., Wang X., Lin H., 2013. Anim. Prod. Sci., (54), 13184.
Méda B., Guinebretière M., Berri C., Mignon-Grasteau S., Moysan J.P., Bordeau T., Raynaud E., Bernard J., Warin L., Bouvarel I., Le Bihan-Duval E., 2022. In : 14èmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 09-10/03/2022.
Roguet C., Neumeister D., Magdelaine P., Dockès A.C., 2017.In : 12èmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 05-06/04/2017.
Vestergaard K., 1982. Appl. Anim. Ethol., (8), 487–495.
Weimer S.L., Mauroloustakos A., Karcher D.M., Erasmus, M.A., 2020. Poult. Sci., (99), 4398-4407.

Figure 1. Disposition des enrichissements dans les parquets de 18 m² (3 m × 6 m).

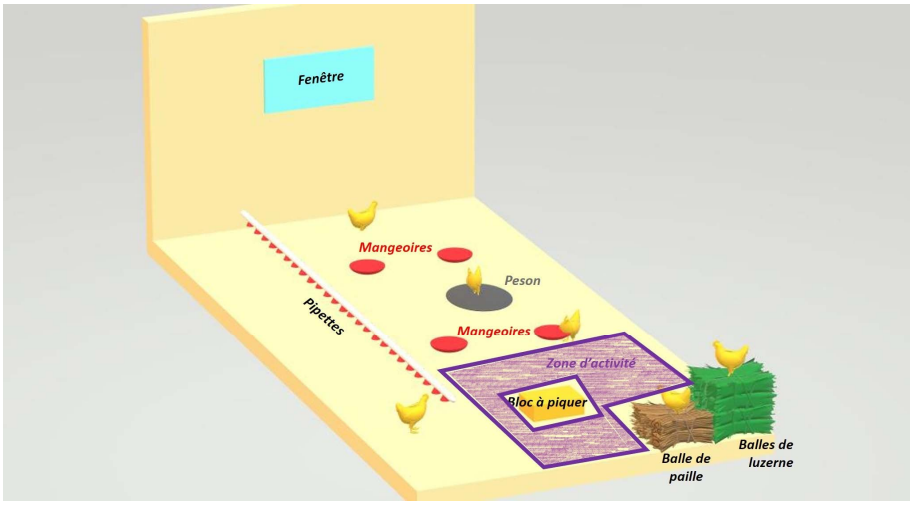


Tableau 1. Effet du génotype et de la densité sur l'utilisation des enrichissements et l'activité générale des animaux

Caractères	Génotype						Densité (kg/m²)	
	Ross 308	Redbro	Rustic Gold	Ranger Classic	JA787	JA757	39	30
Utilisation des enrichissements (en % des animaux présents dans le parquet)[2]								
Présence le long du (des)								
Bloc	1,1 ± 0,7^{a}	1,0 ± 0,6^{bc}	1,0 ± 0,7^{abc}	0,9 ± 0,5^{c}	0,9 ± 0,6^{bc}	1,0 ± 0,7^{ab}	0,9 ± 0,6^{b}	1,1 ± 0,7^{a}
Ballots	2,0 ± 0,8^{c}	2,1 ± 0,9^{ab}	2,2 ± 0,9^{b}	2,2 ± 0,9^{b}	2,1 ± 0,9^{ab}	2,2 ± 0,9^{a}	2,0 ± 0,8^{b}	2,2 ± 1,0^{a}
Total	3,1 ± 1,1	3,1 ± 1,2	3,2 ± 1,3	3,0 ± 1,1	3,1 ± 1,1	3,2 ± 1,2	3,0 ± 1,1^{b}	3,3 ± 1,3^{a}
Perché sur le(s)								
Peson[1]	1,3 ± 0,7^{c}	2,0 ± 0,8^{a}	1,8 ± 0,8^{b}	2,0 ± 0,9^{a}	2,0 ± 1,0^{a}	1,7 ± 0,9^{b}	1,8 ± 0,8^{b}	1,9 ± 1,0^{a}
Bloc	0,3 ± 0,2^{c}	0,5 ± 0,3^{a}	0,4 ± 0,3^{b}	0,5 ± 0,3^{ab}	0,6 ± 0,3^{a}	0,5 ± 0,3^{a}	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,3
Ballots	0,0 ± 0,0^{d}	1,0 ± 0,9^{bc}	0,9 ± 0,8^{c}	1,2 ± 1,0^{ab}	1,3 ± 1,0^{bc}	1,4 ± 1,0^{a}	1,0 ± 0,9	1,0 ± 1,0
Total	1,6 ± 0,7^{d}	3,6 ± 1,1^{b}	3,1 ± 1,1^{c}	3,7 ± 1,1^{ab}	3,9 ± 1,3^{a}	3,7 ± 1,4^{ab}	3,2 ± 1,3^{b}	3,4 ± 1,4^{a}
Picore le(s)								
Bloc	0,1 ± 0,3^{bcd}	0,2 ± 0,4^{ab}	0,1 ± 0,2^{d}	0,1 ± 0,3^{bd}	0,2 ± 0,3^{ac}	0,2 ± 0,4^{a}	0,2 ± 0,3	0,2 ± 0,3
Ballots	0,1 ± 0,3^{d}	0,3 ± 0,4^{bc}	0,3 ± 0,4^{c}	0,4 ± 0,5^{ab}	0,5 ± 0,5^{ab}	0,5 ± 0,5^{a}	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,5
Total	0,2 ± 0,4^{d}	0,5 ± 0,6^{b}	0,4 ± 0,5^{c}	0,5 ± 0,6^{b}	0,7 ± 0,6^{ab}	0,7 ± 0,6^{a}	0,5 ± 0,5	0,5 ± 0,6
Activité générale (% des animaux présents dans la zone d'activité)[2]								
Debout	14,2 ± 12,6^{d}	26,3 ± 17,4^{bc}	22,2 ± 15,8^{c}	25,7 ± 15,4^{bc}	29,2 ± 17,7^{ab}	31,8 ± 19,7^{a}	25,7 ± 16,7	25,0 ± 18,4
Explore	8,6 ± 7,8^{c}	11,9 ± 9,4^{b}	13,0 ± 9,9^{ab}	14,4 ± 10,5^{a}	14,8 ± 11,9^{ab}	14,3 ± 10,4^{a}	12,7 ± 9,9	13,2 ± 10,6
Inactif	71,5 ± 13,9^{a}	63,8 ± 14,4^{bc}	66,2 ± 15,0^{b}	61,3 ± 14,7^{cd}	58,8 ± 16,7^{bd}	59,7 ± 15,4^{d}	64,0 ± 14,9^{a}	62,5 ± 16,3^{b}
Se déplace	4,7 ± 6,2^{c}	7,1 ± 7,9^{ab}	5,2 ± 6,6^{bc}	6,8 ± 7,1^{a}	8,8 ± 10,0^{a}	8,7 ± 9,2^{a}	6,9 ± 7,5^{b}	7,1 ± 8,8^{a}

[1] Caractères pour lesquels l'interaction génotype × densité est significative, [2] Les moyennes associées à des exposants différents sont significativement différentes au seuil de 5%

Tableau 2. Pourcentages par génotype et par densité d'animaux sans problèmes de pattes (pododermatites ou brulure de tarses ; scores nuls) ou avec une démarche normale ou déséquilibrée mais sans boiterie (score nul).

Absence de :	Génotype[1]						Densité (kg/m²)		Effets[2]	
	Ross 308	Redbro	Rustic Gold	Ranger Classic	JA787	JA757	39	30	G	D
Pododermatite	78,8^{b}	84,5^{b}	93,9^{a}	92,7^{a}	81,1^{b}	93,5^{a}	78,6	96,2	***	***
Brûlure du tarse	66,9^{b}	63,7^{b}	68,6^{b}	78,7^{a}	79,6^{a}	76,6^{a}	62,9	81,8	***	***
Boiterie[3]	54,4^{d}	90,9^{b}	85,7^{c}	99,1^{a}	97,3^{a}	98,8^{a}	77,2	80,5	***	***

*[1] Les moyennes associées à des exposants différents sont significativement différentes au seuil de 5%, [2] G, D : significativité des effets du génotype et de la densité (NS=P>0,05 ; *=P<0,05 ; **=P<0,01 ; ***=P<0,001), [3]Caractère pour lequel l'interaction génotype × densité est significative*

EFFETS DE LA SOUCHE ET DE LA DENSITÉ SUR LES PERFORMANCES ET LA QUALITÉ DE LA VIANDE DE POULETS ELEVÉS AVEC LUMIÈRE NATURELLE ET ENRICHISSEMENTS

Méda Bertrand[1], Guinebretière Maryse[2], Berri Cécile[1], Mignon-Grasteau Sandrine[1], Moysan Jean-Philippe[3], Bordeau Thierry[1], Raynaud Emilie[1], Bernard Jérémy[4], Warin Laura[5], Bouvarel Isabelle[5], Le Bihan-Duval Elisabeth[1]

[1]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France
[2]ANSES, EPISABE, 22440 PLOUFRAGAN, France
[3]ANSES, SELEAC, 22440 PLOUFRAGAN, France
[4]INRAE, PEAT, 37380 NOUZILLY, France
[5]ITAVI, 37380 NOUZILLY, France

bertrand.meda@inrae.fr

RÉSUMÉ

Face aux fortes attentes sociétales en termes de bien-être animal, le modèle de production du poulet « standard » est en phase de transition. Des améliorations des conditions de vie des animaux sont plébiscitées et une réduction de la vitesse de croissance envisagée. L'objectif de cette étude était de caractériser les performances zootechniques et la qualité de la viande de six souches différant par leur potentiel de croissance (Ross 308, Redbro, Rustic Gold, Ranger Classic, JA787 et JA757) et élevées à densité « classique » ou réduite (39 ou 30 kg/m²). Les animaux avaient accès à la lumière naturelle et à des enrichissements matériels (blocs à piquer, ballots de paille/luzerne). Ils ont été abattus à J32, J39 ou J46 entre 1,8 à 2,2 kg. Les souches Redbro et Rustic Gold correspondent à de nouvelles alternatives présentant un GMQ ou un rendement filet amélioré par rapport aux Ranger Classic et JA787, mais qui restent en deçà des performances du Ross 308. Par rapport au Ross 308 abattu à J32, les souches abattues à J39 présentaient un GMQ réduit de 24 à 32%, et de 40% pour la JA757, abattue à J46. En parallèle, une hausse significative de 8 à 35% de l'indice de consommation a été observée. La souche a aussi affecté les rendements du poulet « prêt-à-cuire » et en filet (-1 à -3,4 points et -1,5 à -5,5 points, respectivement). Contrairement à la souche, la densité n'a eu que peu d'effet sur les performances et la qualité de la viande. Par ailleurs, la hausse du GMQ est associé à un pH ultime du filet plus élevé chez le Ross 308, alors que le JA757 se caractérise par le pH ultime de la cuisse le plus faible. Ces résultats, associés aux observations de santé et de comportement réalisées lors de l'essai, permettront de disposer de données objectives pour rechercher le(s) meilleur(s) compromis entre compétitivité, qualité de viande et amélioration du bien-être animal.

ABSTRACT

Influence of strain and stocking density on performances and meat quality of broilers reared with enrichments and natural light

Facing strong societal expectations regarding animal welfare, the "standard" chicken production model is in transition. Improving housing conditions of birds is expected and a decrease in growth rate is being considered. The objective of this study was to evaluate the animal performance and meat quality of six strains with different growth potential (Ross 308, Redbro, Rustic Gold, Ranger Classic, JA787, and JA757) and reared at conventional or reduced density (39 or 30 kg/m²). The animals had access to natural light and material enrichments (pecking blocks, straw/alfalfa bales). They were slaughtered at D32, D39, or D46 between 1.8 and 2.2 kg. Redbro and Rustic Gold strains are new alternatives with improved growth rate or meat yield compared to Ranger Classic and JA787, but still below Ross 308 performances. Compared to Ross 308 (D32), growth rate was reduced by 24-32 and 40% for strains slaughtered at D39 and D46 (JA757), respectively. In the same time, a significant increase in feed conversion ratio by 8-35% was observed. The strain also significantly affected ready-to-cook and breast yields (-1 to -3.4 points and -1.5 to -5.5 points, respectively). Unlike strain, density had no effect on performance or meat quality. Thus, increased growth rate was associated with higher ultimate pH of breast meat in Ross 308, while JA757 had the lowest ultimate pH of leg meat. These results, combined with health/ behavioral observations made during the trial will provide objective data to search for the best trade-off(s) between competitiveness, meat quality, and improved animal welfare.

INTRODUCTION

En Europe, il existe depuis plusieurs années de fortes attentes des consommateurs et de la société pour améliorer les conditions de vie des animaux d'élevage (Dockes *et al.*, 2017). De ces attentes, des évolutions des modes d'élevage voire des labels garantissant davantage de bien-être aux animaux sont apparus (ex. *Beter Leven* aux Pays-Bas ; Roguet *et al.*, 2017).
Plus récemment, l'initiative *European Chicken Commitment* (ECC) portée par des associations de protection animale a conduit des opérateurs européens produisant/utilisant de la viande de poulet à s'engager vers une évolution des pratiques d'élevages « minimales » permettant de garantir davantage de bien-être aux animaux. En particulier, l'ECC impose la fourniture d'enrichissements (perchoirs, substrats à picorer), l'élevage en lumière naturelle et la réduction de la densité d'élevage ainsi que de la vitesse de croissance (*i.e.* souches « accréditées ECC »).
De telles évolutions soulèvent des questions économiques puisque des coûts de productions plus élevés sont attendus, en lien avec une durée d'élevage plus longue et une efficience alimentaire moindre (Torrey *et al.*, 2021). Toutefois, le consentement à payer des consommateurs pour des produits dits « *premium* » garantissant davantage de bien-être aux animaux semble limité pour la viande de poulet, en comparaison avec d'autres viandes comme le bœuf (Clark *et al.*, 2017). Dès lors, la recherche d'un compromis entre bien-être des animaux et performances « productives » semble indispensable pour maintenir la compétitivité de la filière « standard », et les opérateurs ont besoin de références pour se positionner.
L'objectif de cette étude était donc d'évaluer les effets de la souche et de la densité d'élevage sur les performances zootechniques, la qualité des carcasses et de la viande, pour des poulets élevés en lumière naturelle et avec des enrichissements de milieu.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et conditions d'élevage

Les animaux ont été élevés sur sciure de bois en parquets de 18 m² selon 12 traitements expérimentaux (6 souches × 2 densités ; 4 parquets / traitement) dans 6 salles en lumière naturelle d'un bâtiment semi-commercial de l'unité expérimentale ANSES SELEAC (1 souche / salle). Tous les parquets étaient enrichis avec des blocs à piquer, des balles de paille et de luzerne et des pesons (vrai peson ou peson « factice » ; Mignon-Grasteau *et al.*, 2022).
Les six génétiques, caractérisées par des vitesses de croissance différentes, étaient : Ross 308, Redbro, Rustic Gold, Ranger Classic, JA787 et JA757. Les animaux étaient élevés en tout-venant à des densités maximales théoriques de 30 ou 39 kg/m² (230 ou 300 animaux / parquet), jusqu'à leur abattage à J32 (Ross 308), J39 (Redbro, Rustic Gold, Ranger Classic et JA787) ou J46 (JA 757). Ces âges à l'abattage ont été choisis à priori, pour atteindre un poids final estimé entre 1,9 et 2,2 kg et regrouper l'abattage des 4 souches avec une vitesse de croissance intermédiaire à celles du Ross 308 et de la JA 757.
Enfin, tous les animaux ont été nourris *ad libitum* (distribution mécanisée) avec la même gamme commerciale d'aliments formulés pour satisfaire aux besoins des poulets Ross 308 : démarrage de J0 à J11 (22,3% MAT ; 2970 kcal/kg), croissance de J12 à J25 (20,0% MAT ; 3035 kcal/kg), finition de J26 à 31 (18,3% MAT ; 3140 kcal/kg) et retrait de J32 à l'abattage (16,6% MAT ; 3210 kcal/kg).

1.2. Performances zootechniques

La croissance des animaux a été suivie à l'aide de pesons automatiques (2 parquets / traitement) mesurant quotidiennement le poids vif moyen (PV) du lot. A partir de ces données, une modélisation du PV en fonction de l'âge a été réalisée grâce à une fonction de Gompertz (Mignon-Grasteau et Beaumont, 2000). De plus, une centaine d'animaux par traitement a été pesée manuellement à J12, J26 et à chaque journée d'abattage (J32, J39 et J46).
La consommation moyenne journalière (CMJ) par animal a été calculée à l'aide des données de distribution quotidienne d'aliment par parquet en tenant compte des effectifs présents dans chaque parquet (mortalité enregistrée quotidiennement). L'indice de consommation (IC) cumulé par parquet a ensuite été calculé en considérant le poids des animaux vivants et morts à J32 et à l'âge d'abattage.

1.3. Rendements et qualité de la viande

Le jour de l'abattage, 32 animaux par traitement (16 mâles, 16 femelles) ont été transportés jusqu'à l'abattoir de l'unité expérimentale INRAE PEAT (DOI : 10.15454/1.5572326250887292E12) pour y être abattus (électronarcose + saignée). Après abattage et éviscération totale, les carcasses ont été stockées une nuit à +4°C en chambre de ressuage. Le lendemain, elles ont été découpées pour évaluer les rendements du poulet « prêt-à-cuire » (PAC), en filet (*Pectoralis major* + *minor*) et en cuisse.
La qualité de la viande a été évaluée en mesurant le pH ultime (pH_u) du filet et de la cuisse ainsi que la couleur du filet (L*, a*, b*), selon la procédure décrite par Berri *et al.* (2007). La fréquence et la gravité de défauts éventuels des filets (*white striping*, *wooden breast* et viande spaghetti) ont également été notées. Les pertes en eau des filets ont été déterminées après 2 jours de ressuage de la viande crue puis après décongélation et cuisson (Baéza *et al.*, 2012). Les pertes totales en eau (stockage + cuisson) ont ensuite été calculées (en % du poids frais). Enfin, la tendreté de la viande a été évaluée en mesurant la force de cisaillement de Warner-Bratzler sur 3 morceaux (1 × 1 × 3 cm) de filet cuit (Honikel, 1998).

1.4. Analyses statistiques

Les effets *souche* et *densité* (et leur interaction) ont été testés par Analyse de Variance (ANOVA) suivie d'un test post-hoc (comparaison de moyennes) à l'aide du logiciel R. Pour les critères de conformation des carcasses et de qualité de la viande, l'effet *sexe* a aussi été testé. L'unité statistique était le parquet pour la CMJ et l'IC et l'animal pour les autres critères.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Croissance

Seule la souche a eu un effet significatif sur le poids et le gain de poids à J32 et à l'abattage (Tableau 1). Ainsi, à J32, les poulets Redbro, Rustic Gold, Ranger Classic et JA787 (abattus à J39) présentaient un PV moyen 30 à 35% inférieur à celui des Ross 308, mais toujours supérieur de 26 à 33% à celui des poulets JA757 (abattus à J46). A l'abattage, les différences entre souches étaient réduites, mais avec un PV encore supérieur de 8 à 21% pour le Ross 308 comparé aux autres souches. En conséquence, le gain moyen quotidien (GMQ) sur la période complète d'élevage des souches abattues à J39 et J46 était inférieur de 24 à 40% à celui des Ross 308. Ainsi, selon nos modélisations, pour atteindre le PV final des Ross 308 (2,2 kg ; Tableau 1), il aurait fallu abattre les autres souches entre 45 et 56 jours (Figure 1).

2.2. Consommation et efficience alimentaire

La souche et la densité ont eu un effet sur la CMJ, sans que l'interaction ne soit significative. Ainsi, à l'abattage, la CMJ était significativement plus élevée chez les animaux élevés à densité réduite (+7 g/j ; données non présentées) et plus faible chez les souches abattues à J39 et J46 (-16 à -25 g/j ; Tableau 1). Cependant, l'IC final pour ces souches était significativement plus élevé que celui des Ross 308 de 0,12 à 0,49 points, soit une dégradation de l'efficience alimentaire de 8 à 14% (Tableau 1). De même, l'IC des JA757 était aussi significativement plus élevé de 0,24 à 0,37 points que celui des souches abattues à J39 (Tableau 1). Cette dégradation de l'IC due à un GMQ réduit est cohérente avec les observations de la littérature (Torey *et al.*, 2021). Toutefois, il reste difficile d'expliquer l'IC exceptionnellement faible des Ranger Classic (1,51 à J39) par rapport aux références du sélectionneur (environ 1,67 pour un PV équivalent).

2.3. Conformation des carcasses

Aucun effet de la densité n'a été détecté sur les caractères de conformation des carcasses. A l'inverse, la souche a un effet significatif sur tous les rendements avec, par rapport à la Ross 308, une baisse chez les autres souches de 1 à 3,4 points du rendement PAC et de 1,5 à 5,5 points du rendement filet (Tableau 2). A l'inverse, le rendement cuisse a augmenté de 0,3 à 1,1 points. Ainsi, les rendements PAC et en filet sont fortement positivement corrélés avec le GMQ (r = 0,60 pour l'ensemble des souches), alors que les rendements en filet et en cuisse sont négativement corrélés entre eux (r = -0,34). Ces résultats sont cohérents avec le progrès génétique qui a permis d'augmenter conjointement le GMQ et les rendements en filet, ceci au détriment du développement d'autres parties du corps, comme par exemple les cuisses (Zuidhof *et al.*, 2014). Le meilleur équilibre entre développement des filets et des cuisses chez les souches présentant des GMQ réduits par rapport au Ross 308 pourrait contribuer à leur activité physique plus élevée (Mignon-Grasteau *et al.*, 2022). Par ailleurs, le sexe n'a eu un effet significatif que sur les rendements PAC et en cuisse (Tableau 2), supérieurs chez les mâles, en moyenne aussi plus lourds (+358 g chez les animaux découpés).

2.4. Qualité de la viande

La souche a un effet significatif sur le pH_u de la viande du filet et de la cuisse. L'augmentation de la vitesse de croissance et du rendement en filet s'accompagne d'une moindre acidité de la viande avec la plus forte valeur de pH_u du filet chez les Ross 308 (5,89) et la plus faible chez les JA757 (5,67), cette souche se distinguant également par le pH_u de la cuisse le plus faible. Bien que significatif, l'effet sexe reste mineur sur les valeurs de pH_u (≈-0,04 chez les femelles). Seul le pH ultime de la cuisse est significativement mais très modérément affecté par la densité (avec une diminution de 0,04 à 30 kg/m²). Ces variations de pHu restent globalement dans une plage optimale pour la conservation et la transformation de la viande (5,7 – 6,1 ; Tesseraud *et al.*, 2014)

La couleur du filet est influencée par la souche et le sexe, avec une viande moins pâle (L* réduit ; Tableau 2) pour les souches abattues à J32 et J39 comparativement à la JA 757 abattue à J46, et chez les mâles par rapport aux femelles (données non présentées). Il est probable que les variations de luminance observées entre souches soient en partie liées au variations de pH_u, les souches présentant les viandes les plus acides étant également les plus pâles (Alnahhas *et al.*, 2014).

Concernant les pertes en eau du filet, la souche et le sexe ont eu un effet significatif sur les pertes au ressuage, à la décongélation/cuisson ou totales (Tableau 2). Ainsi, les filets issus des souches abattues à J39 et J46 ont perdu entre 16 et 30% d'eau en moins que les filets issus des Ross 308 (pertes totales), tandis que les filets des femelles ont perdu environ davantage d'eau (pertes au ressuage : +13% ; pertes à la décongélation/cuisson et pertes totales : +3% ; données non présentées). Ces résultats sont contradictoires avec ceux de Alnahhas *et al.* (2014) qui ont montré une baisse des pertes en eau avec la hausse du pH_u. Ils pourraient s'expliquer en partie par la présence de défauts *white striping* et *wooden breast* uniquement observés chez les Ross 308 (12% et 24% des filets respectivement) et connus pour altérer fortement le pouvoir de rétention d'eau de la viande (Petracci *et al.*, 2019). Enfin, seule la souche a eu un

effet significatif sur la texture de la viande. Ainsi, comparativement au Ross 308, les souches abattues à J39 et J46 présentaient des filets plus fermes (Tableau 2), en cohérence avec leur pH_u plus faible, sachant qu'il existe une relation positive très forte entre ce paramètre et la tendreté du filet (Alnahhas *et al.*, 2014). Le changement de structure du filet, en lien avec la présence de défauts chez les Ross 308, pourrait également être une piste d'explication.

CONCLUSION

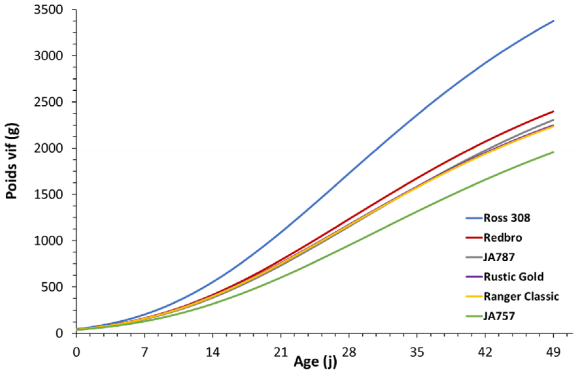
L'effet de la réduction de la densité d'élevage apparait, dans nos conditions expérimentales, peu significatif sur les performances zootechniques, la conformation des carcasses et la qualité de la viande. A l'inverse, les résultats présentés dans cette étude montrent des effets importants de la souche. Ainsi, une réduction de la vitesse de croissance dégrade globalement l'indice de consommation et les rendements en viande, mais améliore certains critères de qualité de la viande (comme par exemple les pertes en eau). Les opérateurs devront donc intégrer cet antagonisme entre « productivité » et qualité de viande, de même que les impacts sur la santé et le comportement des animaux (voir Mignon-Grasteau *et al.*, 2022), dans leur recherche de nouveaux schémas de production « standard ». Pour cela, les nouvelles souches proposées par les sélectionneurs (Redbro, Rustic Gold) constituent un bon compromis, avec des performances intermédiaires et l'amélioration de certains critères de qualité de viande, de comportement et de santé des animaux (*cf.* Mignon-Grasteau *et al.*, 2022) par rapport au Ross 308.

REMERCIEMENTS

Cette étude, réalisée dans le cadre des UMT BIRD et SANIVOL, a été financée par le fonds CASDAR (projet n°20AIP1619988 COCORICO), le CIPC et le SYNALAF. Les auteurs remercient les sociétés Hubbard et Aviagen pour la mise à disposition de leurs souches, et le personnel des unités expérimentales ANSES et INRAE pour le suivi de l'essai et l'abattage des animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alnahhas N., Berri C., Boulay M., Baéza E., Jégo Y., Baumard Y., Chabault M., Le Bihan-Duval E., 2014. J. Anim. Sci., (92), 3816-3824.
Baéza E., Arnould C., Jlali M., Chartrin P., Gigaud V., Mercerand F., Durand C., Méteau K., Le Bihan-Duval E., Berri C., 2012. J. Anim. Sci., (90), 2003-2013.
Berri C., LeBihan-Duval E., Debut M., Santé-Lhoutelier V., Baéza E., Gigaud V., Jégo Y., Duclos M.J., 2007. J. Anim. Sci., (85), 2005-2011.
Clark B., Stewart G.B., Panzone L.A., Kyriazakis I., Frewer L.J., 2017. Food Policy, (68), 112-127.
Dockes A-C., Delanoue E., Chouteau A., Philibert A., Philibert A., Magdelaine P., Roguet C., 2017. 12èmes JRA-PFG, 225-229.
Honickel K.O., 1998. Meat Sci., (49), 447-457.
Mignon-Grasteau S., Warin L., Mabille L., Méda B., Le Bihan-Duval E., Bouvarel I., Mocz F., Guinebretière M., 2022. 14èmes JRA-PFG, *sous presse*.
Mignon-Grasteau S., Beaumont C., 2000. INRA Prod. Anim, (13), 337-348.
Petracci M., Soglia F., Madruga M., Carvalho L., Ida E., Estévez M., 2019. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., (18), 565-583.
Roguet C., Neumeister D., Magdelaine P., Dockès A-C., 2017. 12èmes JRA-PFG, 220-224
Tesseraud S., Bouvarel I., Fraysse P., Métayer-Coustard S., Collin A., Lessire M., Berri C., 2014. INRA Prod. Anim., (27), 337-346.
Torrey S., Mohammadigheisar M., Nascimento dos Santos M., Rothschild D., Dawson L.C, Liu Z., Kiarie E.G., Edwards A.M., Mandell I., Karrow N., Tulpan D., Widowski T.M., 2021. Poultry Sci., (100), 100955.
Zuidhof M.J., Schneider B.L., Carney V.L., Korver D.R., Robinson F.E., 2014. Poultry Sci., (93), 2970-2982.



	Age					
PV (kg)	Ross 308	Redbro	Rustic Gold	Ranger Classic	JA787	JA757
1,0	19,9	24,4	25,1	25,3	25,5	29,0
1,5	25,6	32,2	33,5	33,7	33,7	38,7
1,8	28,8	37,1	39,0	39,2	38,8	45,2
2,0	31,0	40,7	43,1	43,4	42,5	50,1
2,2	33,2	44,6	47,8	48,1	46,6	56,0

Figure 1. Modélisation du poids vif (PV) en utilisant les données mesurées par les pesons automatiques (moyenne des densités 30 et 39 kg/m²) et âge requis pour atteindre différents poids vifs.

Tableau 1. Effets de la souche et de la densité sur les performances zootechniques.

Souches	**Ross 308**	**Redbro**	**Rustic Gold**	**Ranger Classic**	**JA787**	**JA757**	**Effets[1]**		
Age à l'abattage (j)	**32**	**39**	**39**	**39**	**39**	**46**	**S**	**D**	**S × D**
Poids vif (g)									
à J32	2206^{a}	1517^{b}	1465^{bc}	1445^{c}	1441^{c}	1140^{d}	***	ns	ns
à l'abattage	2206^{a}	2040^{b}	1931^{c}	1881^{cd}	1827^{d}	1900^{cd}	***	ns	ns
Gain moyen quotidien (g/j)									
J0-J32	67,4^{a}	46,1^{b}	44,4^{bc}	43,9^{c}	43,8^{c}	34,5^{d}	***	ns	ns
J0-Abattage	67,4^{a}	51,2^{b}	48,4^{c}	47,2^{cd}	45,8^{d}	40,5^{e}	***	ns	ns
Consommation moyenne journalière (g/j/animal)									
J0-J32	99,3^{a}	75,3^{b}	73,7^{b}	68,7^{c}	72,2^{bc}	61,7^{d}	***	*	ns
J0-Abattage	99,3^{a}	83,6^{b}	80,7^{b}	74,3^{c}	79,2^{bc}	79,0^{bc}	***	*	ns
Indice de consommation									
J0-J32	1,392^{c}	1,485^{bc}	1,496^{bc}	1,405^{bc}	1,475^{bc}	1,609^{a}	***	ns	ns
J0-Abattage	1,392^{d}	1,588^{bc}	1,606^{bc}	1,510^{c}	1,646^{b}	1,882^{a}	***	ns	ns

[1] S : Souche ; D : Densité

* P<0,05 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001

Tableau 2. Effets de la souche, de la densité et du sexe sur la qualité de la carcasse et de la viande.

Souches	**Ross 308**	**Redbro**	**Rustic Gold**	**Ranger Classic**	**JA787**	**JA757**	**Effets[1]**			
Age à l'abattage (j)	**32**	**39**	**39**	**39**	**39**	**46**	**S**	**D**	**s**	**S × s**
Rendements (% du poids vif)										
Prêt-à-cuire	73,7^{a}	72,3^{bc}	72,7^{b}	71,9^{c}	71,9^{c}	70,3^{d}	***	ns	***	ns
Filet	23,2^{a}	19,8^{c}	21,7^{b}	19,7^{b}	19,6^{c}	17,7^{d}	***	ns	ns	ns
Cuisse	22,5^{d}	23,0^{bcd}	22,8^{cd}	23,1^{abc}	23,4^{ab}	23,6^{a}	***	ns	***	ns
pH ultime de la viande										
Filet	5,89^{a}	5,75^{b}	5,71^{bc}	5,69^{bc}	5,67^{cd}	5,62^{d}	***	ns	**	ns
Cuisse	6,06^{a}	6,08^{a}	6,08^{a}	6,12^{a}	6,07^{a}	5,94^{b}	***	*	***	ns
Couleur du filet										
L*	47,1^{b}	45,2^{c}	45,8^{bc}	46,3^{bc}	46,9^{b}	48,9^{a}	***	ns	**	ns
a*	-0,07^{b}	-0,92^{c}	-1,06^{cd}	-1,07^{cd}	-1,24^{d}	0,39^{a}	***	ns	ns	**
b*	9,28^{b}	8,71^{c}	8,92^{bc}	9,41^{ab}	9,90^{a}	5,66^{d}	***	ns	ns	**
Pertes en eau de la viande de filet										
au ressuage (% du poids frais)	1,61^{a}	1,10^{b}	1,13^{b}	1,12^{b}	1,27^{b}	1,26^{b}	***	ns	**	*
à la décongélation/cuisson (% du poids congelé)	20,5^{a}	16,3^{b}	17,1^{b}	16,9^{b}	17,2^{b}	14,3^{c}	***	ns	*	**
totales[2] (% du poids de filet frais)	21,8^{a}	17,2^{b}	18,0^{b}	17,8^{b}	18,3^{b}	15,3^{c}	***	ns	*	*
Tendreté[3] de la viande (N/cm²)	12,1^{d}	13,3^{c}	13,8^{bc}	14,2^{bc}	14,8^{ab}	15,3^{a}	***	ns	ns	ns

[1] Seule l'interaction *souche* × *sexe* est présentée, les autres interactions étant non significatives : S : Souche ; D : Densité ; s : sexe.

[2] Pertes au ressuage + à la décongélation/cuisson.

[3] Résistance à la force de cisaillement de Warner-Bratzler.

* P<0,05 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001

SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT- BIEN ETRE ANIMAL

Synthèse

L'OVOSEXAGE EN EUROPE : ETAT DES LIEUX ET PERSPECTIVES ETHIQUES ET TECHNIQUES

Maxime Quentin[1], Marie Bourin[1], Joël Gautron[2], Sophie Réhault-Godbert[2]

[1]INSTITUT TECHNIQUE DE L'AVICULTURE - 37380 NOUZILLY, FRANCE
[2]INRAE, UNIVERSITE DE TOURS, BOA, 37380 NOUZILLY, FRANCE

RÉSUMÉ

L'une des problématiques majeures de la filière « poules pondeuses/ œufs de consommation » est l'élimination des poussins mâles (frères de pondeuses) due à l'absence de circuit de valorisation de ces animaux (du fait de leur faible rendement en viande). Cette pratique inhérente à la filière concerne près de 50 millions de poussins mâles en France par an. Ce constat questionne l'éthique de la production d'œufs et a été très largement médiatisé ces dernières années. La prise de conscience de cette problématique et des pratiques d'élimination des poussins mâles avaient conduit à l'annonce début 2020 par différents gouvernements européens de l'interdiction de cette pratique d'ici à la fin 2021, ce qui a révélé l'urgence de recourir à des alternatives. A l'heure actuelle, trois stratégies principales sont envisagées : 1) élever les frères de pondeuses et repérer des marchés de valorisation, 2) évaluer les performances d'animaux issus de croisements génétiques où les femelles auraient une production d'œufs satisfaisante et où les mâles seraient valorisés pour leur viande (souches « double fin »), 3) développer des outils de sexage précoce dans l'œuf (*in ovo)* pour éliminer les œufs « mâles » plutôt que les poussins « mâles ». Les avancées relativement récentes sur les techniques d'ovosexage ont permis l'émergence de marchés viables, bien que la plupart des approches présentent encore des marges d'amélioration et que de nouvelles stratégies voient le jour (« genome editing », paramètres d'incubation). Alors que certains couvoirs ont d'ores et déjà investi, il est clair que la question de l'acceptabilité des différentes approches d'ovosexage par les ONG et le consommateur mais également leur viabilité économique pour les professionnels restera au cœur des discussions dans les années à venir.

ABSTRACT

« Sexing eggs in Europe: update from technical and ethical perspectives»

One of the major problems of the "laying hens/table eggs" sector is the culling of male chicks (brothers of layers) due to the lack of an economical market for these animals (low meat yield). This practice, inherent to the egg industry, concerns nearly 50 million male chicks in France per year. This observation questions the ethics of egg production and has been widely publicized in the last years. The awareness of this problem and of the methods used to eliminate male chicks has led to the announcement in early 2020 by various European governments of a ban on this practice by the end of 2021. Such an announcement has precipitated the search for alternatives. At present, three main strategies are being considered: 1) raising layer brothers and identifying new economical markets, 2) evaluating the performance of animals from genetic crosses where females would be raised to produce eggs and males would be raised for their meat ("dual purpose" strains), 3) developing early tools to detect the sex of the embryo in the egg (*in ovo*) to eliminate "male" eggs rather than male chicks. Relatively recent advances in egg sexing techniques have allowed viable markets to emerge, although most approaches still have room for improvement, and new strategies are emerging ("genome editing", incubation parameters). Some hatcheries have already invested in *in ovo*-sexing methods but it is clear that the question of the acceptability of the various ovosexing approaches by NGOs and consumers but also their respective economic viability for professionals will remain at the heart of the discussions in the forthcoming years.

INTRODUCTION

En France, la filière « œufs à couver » ou OAC représente près de 1,8 milliards d'œufs en 2020 (Agreste, Nov. 2021), œufs qui ont donné naissance aux futures poules pondeuses (filière « ponte » / œufs de consommation) et futurs poulets de chair (filière « chair » / viande). Dans la filière « ponte », les poules reproductrices ont été sélectionnées en amont sur des critères de production et de qualité d'œufs. Ces poules fournissent des œufs fertiles dont 50% environ sont des embryons mâles. Cependant, les poussins mâles issus de cette sélection ne sont pas valorisés du fait d'une croissance moindre, de leur faible rendement et d'une qualité de viande médiocre (Mueller et al., 2018). Seul un nombre très limité d'entre eux est élevé comme reproducteurs pour assurer la production des futures poules pondeuses. Les poussins mâles issus de la souche « ponte » sont donc éliminés 1 jour après l'éclosion après sexage. Ainsi, plusieurs milliards de poussins mâles (frères des poules) sont éliminés chaque année dans le monde dont près de 50 millions en France (Agreste, Nov. 2021). Ce constat inhérent aux filières de production modernes, ainsi que les méthodes utilisées pour l'élimination des poussins, soulèvent des questions éthiques majeures. Ces dernières ont été très médiatisées ces dernières années, suite à des actions d'information par des ONG welfaristes. Cette prise de conscience à la fois par les consommateurs et les pouvoirs publics a conduit le 16 octobre 2019, à l'annonce de l'interdiction de l'élimination des poussins mâles de la souche « Ponte » d'ici fin 2021, par les ministres de l'agriculture français et allemand. Une proposition de loi visant à interdire le broyage et le gazage des poussins en souche ponte, a été proposée à l'assemblée nationale en janvier 2020. Cependant, cette proposition a été renvoyée à la commission des affaires économiques, à défaut de constitution d'une commission spéciale dans les délais impartis. La mise en place a donc été retardée en raison d'un timing très serré et des difficultés liées à la crise sanitaire. Néanmoins, l'échéance annoncée a accéléré la recherche d'alternatives en Europe. Trois d'entre elles sont évaluées en parallèle : 1) l'élevage des frères de pondeuses 2) le développement d'outils permettant une détermination du sexe dans l'œuf, avant l'éclosion des poussins et 3) la production de souches « double fin » où les femelles seraient destinées à la production d'œufs et les mâles à la production de viande (Gautron et al., 2021). Certains couvoirs ont d'ores et déjà amorcé la transition en utilisant les outils d'ovosexage disponibles mais certains présentent encore des limites (précision, rapidité, invasivité, coût, etc.) (Bourin et al., 2020). A l'heure où la date d'échéance est révolue, cette revue fait le point sur les avancées des techniques d'ovosexage commercialisées ou à l'échelle de prototype, et les opportunités futures, en termes de développement, de viabilité économique pour les professionnels et d'acceptabilité sociétale.

1. CONTEXTE DE L'ELIMINATION DES POUSSINS D'UN SEXE DANS LES PRODUCTIONS AVICOLES

1.1 Historique et origine de la problématique

En production avicole, l'élimination des poussins d'un sexe concerne la filière de production d'œufs de consommation et la filière de production de foie gras. Elle s'applique lorsque les caractéristiques physiologiques ou phénotypiques de l'un des deux sexes ne remplissent pas les critères de productivité ou de qualité du produit fini. Ainsi, les poussins mâles, frères de poules pondeuses, sont éliminés après éclosion car 1) ils ne pondent pas d'œufs, et 2) leur viande ne satisfait pas les critères de rendement et de qualité nécessaire à leur valorisation sur les marchés actuels. Dans la filière « production de foie gras », seuls les mâles (canards mulards) sont utilisés car le foie des femelles est trop nervuré et trop petit pour être valorisé. Les cannettes sont en partie éliminées à l'éclosion quand elles ne trouvent pas de valorisation sur les marchés export (Europe de l'est, Egypte), ce qui représente environ 50% des 30 millions de canetons femelles éclos chaque année en France (Agreste, Nov. 2021). L'élimination sélective des d'animaux mâles ou femelles dans certaines filières de production est liée à la sélection des animaux depuis des décennies sur des performances zootechniques, qui malheureusement pour ces deux types de production dépendent du sexe de l'animal.

1.2 Etat des lieux en Europe

L'Europe a produit plus de 370 millions de poules pondeuses en 2020 (Commission Européenne, 2021), ce qui représente autant de poussins mâles éliminés, si on considère un sexe ratio équilibré. C'est la Suisse qui, dès janvier 2020, est la première à interdire le broyage des poussins mâles. Elle autorise néanmoins le recours à l'euthanasie gazeuse pour les poussins mâles valorisés dans l'alimentation des zoos, pour les rapaces et reptiles notamment. La France avec près de 48 millions de poules pondeuses est le 3ème producteur en Europe derrière l'Allemagne (56 millions) et la Pologne (50 millions) (Commission Européenne, 2021). C'est en tant que deux des plus gros producteurs de poules pondeuses que l'Allemagne et la France ont dû se positionner très rapidement pour faire face à la montée des questionnements éthiques liés à cette production. Le 20 janvier 2020, l'Allemagne a voté en faveur de l'arrêt de l'élimination des poussins mâles, en précisant le soutien de méthodes permettant un ovosexage avant le 6ème jour d'incubation d'ici à 2024. En juillet 2020, suite à une rencontre franco-allemande sur le sujet, la France a également annoncé la fin de l'élimination des poussins mâles en 2022, un soutien des accouveurs dans le cadre du plan de relance, ainsi que l'ouverture du dialogue au sein de l'interprofession pour la prise en charge des coûts et leur répercussion aux consommateurs. Dans le sillage de cette

déclaration, plusieurs pays Européens ont annoncé s'intéresser à cette démarche : Luxembourg, Finlande, Chypre, Irlande, Espagne, Belgique, Pays-Bas, Grèce, Slovaquie, Portugal.

Quant à la production de foie gras, le marché est essentiellement porté par la France qui assure 75,4% de la production en Europe, devant la Hongrie (13,5%), la Bulgarie (8.5%) l'Espagne (2,5%) et la Belgique (0.1%) (Source : Eurofoiegras, 2020). Ces deux types de production font donc de la France l'un des producteurs les plus concernés par cette prise de conscience éthique.

1.3 Méthodes d'élimination des poussins et destination

Le tri des poussins mâles et femelles est assuré par les couvoirs industriels, à l'éclosion, après sexage. Ce dernier est basé sur des différences anatomiques mâles/femelles existant au niveau du cloaque, sur la couleur des plumes ou sur la taille des rémiges pour les souches de poules pondeuses brunes. Pour la production de foie gras, une lignée de canard autosexable a été développée (Groupes Orvia et Grimaud), ce qui permet un sexage à l'éclosion grâce à la couleur des yeux (yeux rouges pour les femelles et noirs pour les mâles). Les méthodes alors utilisées pour éliminer des poussins mâles et les canetons femelles doivent être le plus rapide possible et s'appuient sur la règlementation en vigueur (RÈGLEMENTS. RÈGLEMENT (CE) No 1099/2009 DU CONSEIL du 24 septembre 2009 sur la protection des animaux au moment de leur mise à mort) ainsi que sur les recommandations de l'American Veterinary Medical Association (AVMA guidelines for the euthanasia of animals). A l'heure actuelle, les poussins mâles sont soit broyés (par une machine pourvue de rouleaux ou de lames à rotation rapide), soit gazés (par dioxyde de carbone). Les poussins mâles de la filière ponte ne reçoivent pas tous le même traitement : environ 15 millions de poussins servent, après euthanasie par voie gazeuse, surgélation et congélation, d'aliment pour les parcs animaliers ou zoos et aussi pour certaines associations de sauvegarde d'animaux sauvages. Les autres poussins euthanasiés peuvent être valorisés par des usines de transformation d'aliments (pour animaux domestiques : le pet-food), être utilisés pour le compostage (Glatz et al., 2011) ou simplement envoyés à l'équarrissage.

1.4 Les alternatives possibles et le choix de l'ovosexage

Parmi les différentes alternatives, trois d'entre elles en particuliers peuvent être envisagées : 1) l'élevage des frères de pondeuses, 2) l'ovosexage et 3) le développement de souches à double fin. D'autres approches comme l'édition du génome ou des conditions particulières d'incubation qui permettraient de déséquilibrer la sex-ratio en faveur des femelles sont également à l'étude (voir 3.2). Pour ce qui est de l'élevage des frères de pondeuses et de leur valorisation, il n'existe pas encore de marchés pour ce type de produit. Plusieurs initiatives sont à l'étude dans la filière Française. De l'autre côté du Rhin, suite à l'interdiction réglementaire, la majeure partie des poussins mâles éclos en Allemagne sont exportés vers la Pologne puis valorisés comme minerai pour la transformation (saucisse, viande reconstitué) ou les marché exports. Le développement de souches à double fin ou mixtes est assuré par plusieurs initiatives (suisse et allemande notamment) et de nouveaux croisements de génotypes ont vu le jour. Les élevages en agriculture biologique de ces pays notamment ont fait le choix de souches à double fin mais le coût très élevé de cette approche limite son déploiement dans les filières conventionnelles. Leur productivité dans des conditions d'élevage réalistes ainsi que la qualité des produits dérivés nécessitent d'être optimisés (Gautron et al., 2021).

Ainsi, parmi les différentes alternatives proposées, seul l'ovosexage apparait à l'heure actuelle raisonnablement applicable rapidement sur le terrain. En effet, il ne modifie pas l'organisation de la filière « œuf » et ne nécessite pas la mise en œuvre de nouveaux marchés en filière volaille de chair. Il concentre finalement l'effort chez les accouveurs comme c'est déjà le cas actuellement.

2. TECHNIQUES D'OVOSEXAGE CHEZ LES OISEAUX

2.1 Dimorphisme sexuel *in ovo* et principe des techniques d'ovosexage

Les méthodes de sexage *in ovo* reposent sur le postulat selon lequel les mâles et les femelles présentent des caractéristiques anatomiques, physiologiques, moléculaires et/ou génétiques (gonosomes : ZZ chez le mâles, ZW chez la femelle) qui permettent la discrimination entre les sexes dès le stade embryonnaire, donc pendant l'incubation. Certaines de ces méthodes sont universelles tandis que d'autres ont été spécifiquement conçues pour des génotypes sélectionnés (exemple : couleur du plumage pour les souches brunes, couleur des yeux pour le canard mulard). Hormis ces deux exemples, la plupart des techniques d'ovosexage disponibles nécessitent le prélèvement de cellules embryonnaires ou de cellules ou fluides dérivés des annexes extra-embryonnaires. La limite de ces dernières techniques est qu'elles dépendent de la cinétique d'apparition des structures/fluides extra-embryonnaires au cours du développement embryonnaire, de la quantité nécessaire d'échantillons pour le sexage et du caractère invasif de certaines d'entre elles. Les techniques développées pour l'espèce *Gallus gallus* sont à priori transposables à l'espèce *Anas platyrhynchos*. De même, la possibilité de détecter des caractères dimorphiques phénotypiques *in ovo* (couleur de plumes pour les souches brunes et couleur des œufs pour le canard), le plus souvent par des

approches spectroscopiques, dépend également du stade de développement où apparaissent ces caractères (dans la deuxième moitié du développement).

2.2 Historique et enjeux (techniques et éthiques) des méthodes d'ovosexage

L'utilisation de l'ovosexage et l'élimination, non plus d'un poussin de 1 jour, mais d'un embryon mâle, n'exonère pas la filière d'apporter l'assurance que l'embryon ne ressent pas de douleur au moment de son élimination. Sur le plan strictement réglementaire aucune précaution particulière n'est nécessaire pour l'élimination des embryons avant le dernier tiers du développement embryonnaire soit 14 jours.

Le développement du système et des connexions nerveuses nécessaires à l'intégration des informations de nociceptions est terminé et potentiellement fonctionnel à 7 jours de développement (Bjornstad et al, 2015). Pourtant, Mellor et Diesch 2007, rapportent l'absence d'activité cérébrale (électro-encéphalogramme) avant le 15ème jour de développement embryonnaire. Ainsi, sans conscience, il ne peut y avoir de souffrance. En outre, ces mêmes auteurs, font également l'hypothèse de la présence de neuromédiateurs, de récepteurs de posture etc. (au niveau du cou) permettant de maintenir l'embryon dans un état de sommeil très profond jusqu'à 18 jours d'incubation. La recherche sur la sensibilité de l'embryon d'oiseau est restreinte, l'approche neuroanatomique de la sensibilité est limitée par l'absence de prise en compte de l'état de conscience. De plus, les travaux sur la mesure de la « conscience embryonnaire » sont anciens et nécessitent d'être actualisés. Ainsi, la science manque aujourd'hui d'information pour la période comprise entre le 8ème et le 15ème jour d'incubation, qui reste une « zone grise ». Les scientifiques s'accordent pour que l'essentiel des efforts soit consacré au développement de méthodes d'ovosexage efficaces avant le 9ème jour d'incubation (en particulier pour les méthodes qui nécessitent le prélèvement d'un composé interne de l'œuf susceptible de perturber le développement normal de l'embryon).

2.3 Synthèse et futur des méthodes d'ovosexage

La synthèse des différentes caractéristiques des outils d'ovosexage actuellement sur le marché ou susceptibles de l'être à court terme est présenté dans le Tableau 1.

Les techniques développées jusqu'alors sont utilisables dès le 9ème jour d'incubation.

Les techniques PlantEGG et Seleggt reposent sur le prélèvement du liquide allantoïque dont la quantité disponible sur des stades plus précoces reste limitante. La méthode Seleggt, issue des travaux de Weissmann et al (2013 / 2014) a donnée naissance à la démarche Respegg, certifiant que l'œuf est issu d'une filière sans élimination du poussin mâle (https://www.respeggt.com/fr/). La démarche PlantEgg (https://www.plantegg.de/) utilise le même outil de prélèvement que Seleggt et a donc les mêmes capacité d'ovosexage. Cette technique basée sur la PCR et la détection génétique a atteint récemment une sensibilité de sexage record à près de 99,5% (Source PlantEgg, 2021). La troisième technique commercialement accessible a été présentée par la startup néerlandaise In-ovo (www.inovo.nl; patent Bruin and Shutterheims 2014). La machine Ella, est née de ce travail et utilise la spectroscopie de masse ultra-rapide pour un rendement d'ovosexage proche de la méthode Seleggt. Peut-on attendre des évolutions de ce type de technique ? Cela parait improbable que ces techniques d'ovosexage à partir du fluide allantoïque puissent être transposés à des stades antérieurs au 6ème jour d'incubation, jour où ce liquide commence à se former.

Le développement d'approches non invasives est toujours d'actualité même si à l'heure actuelle, elles ne permettent pas d'envisager une application avant 13 jours de développement embryonnaire. L'outil actuellement disponible a été développé par l'entreprise Agri Advance Technologie (AAT gmbh, www.agri-at.com/fr/) filiale du groupe Erich Wesjohann Gmbh, lui-même propriétaire des sélection Lohmann et Hyline. Cet outil d'ovosexage nommé « Cheggy » est basé sur les travaux de Golher et al (2017) et utilise l'imagerie hyperspectrale pour reconnaitre la couleur de la plume des poules de souche brunes. Le moteur d'intelligence artificielle utilisé pour l'analyse d'image apporte une bonne fiabilité à la méthode puisque le taux d'erreur moyen mesuré sur 50 éclosions impliquant les 4 génétiques utilisées en France est de 4,1% (Source AAT, janvier et juillet 2021) et a pu être réduit à près de 2% pour certaines d'entre elles. La non invasivité de la méthode et le traitement automatisé de l'image permet un très grand rendement (18000 œufs à l'heure) soit près de 10 millions de poules par an.

Plus récemment, la société ORBEM Gmbh (https://www.orbem.ai/), a proposé une nouvelle méthode d'ovosexage à J14. Elle est basée sur la détection des gonades grâce à l'imagerie par résonnance magnétique (IRM). Cette technologie, quoi que tardive, a l'avantage de ne pas avoir de limites génétiques et pourrait potentiellement être utilisées sur plusieurs espèces. Les premiers essais réalisés indiquent un taux de succès proche de 100% (Orbem, données personnelles) mais les vitesses de fonctionnement restent limitées pour le moment (900 œufs/heure). Cette technique est encore au stade du développement industriel. Elle fera l'objet d'un prototype commercial dans le courant de l'année 2022.

Le challenge des méthodes d'ovosexage est de développer des techniques fiables, sans risque pour l'embryon, précoces, de faible coût, applicables à grande échelle et quelles que soient les souches utilisées (blanches ou brunes, sélectionnées ou

rustiques). Il est probable que la méthode idéale n'existe pas encore.

3. AUTRES STRATEGIES ET NOUVELLES QUESTIONS TECHNIQUES ET ETHIQUES ?

3.1 L'édition du génome

Bien que l'acceptabilité sociétale de ces approches reste très faible (Gremmen et al., 2018), certains consommateurs voire certaines ONGs peuvent considérer que l'utilisation d'animaux transgéniques en agriculture est préférable, d'un point de vue éthique, à l'abattage du sexe non désiré (Douglas et Turner, 2020). L'avènement de l'édition du génome par la technique CRISPR/Cas9 met en lumière une nouvelle opportunité de générer potentiellement un sexe qui porterait un marqueur spécifique, détectable dès la ponte de l'œuf (introduction d'un marqueur fluorescent dans un des chromosomes sexuel/société EggXYT) ou de créer une descendance entièrement « femelle » ou entièrement « mâle ». Ainsi, il apparaît urgent de discuter de manière plus globale de l'acceptabilité et du rapport bénéfice/risque potentiel de ces approches dites « OGM » (voir 4.3).

3.2 Paramètres environnementaux

Chez certaines espèces animales, le sex-ratio des descendants peut être affecté par des facteurs environnementaux tels que l'alimentation, la physiologie (Klein et al., 2008), le statut hormonal des reproducteurs, ainsi que leur fonds génétique. Cependant, les effets chez les oiseaux sont relativement modestes et il n'existe pas à l'heure actuelle de données fiables, validées par la communauté scientifique permettant de penser que ce type d'approches peut être utilisés en aviculture (Gautron et al., 2021).

3.3 Quels risques pour l'embryon? Quel recul sur les effets à long terme (animaux en élevage)?

Pour deux des techniques d'ovosexage disponibles (Tableau 1), l'échantillonnage de cellules dérivées d'embryons ou de fluides extra-embryonnaires implique une technique invasive ou semi-invasive qui peut diminuer la viabilité des embryons femelles ovosexés, qui sont ensuite réincubés jusqu'à l'éclosion.

L'efficacité de chacune des méthodes en condition commerciale est encore largement mal connue. Restent-elles efficaces quel que soit le type d'œufs (petit ou gros, sales, fragiles, stocké ou non), l'âge de la poule et la fragilité de la coquille associée ? Seul AAT a récemment publié les résultats d'une étude faisant état d'une baisse d'environ 8% de la productivité des couvoirs (*vs* la méthode actuelle): les erreurs de sexage, l'effet des manipulations des œufs, les difficultés rencontrées sur les premiers œufs (que la densité de coquille rend la spectroscopie moins efficace) sont des exemples de paramètres responsables de ces pertes. Aucune étude similaire n'est disponible pour les méthodes invasives.

Les conséquences des outils d'ovosexage sur la productivité méritent encore d'être approfondies mais les professionnels qui développent les outils d'ovosexage sont eux-mêmes des professionnels de l'accouvage ou en grande proximité avec eux, ce qui garantit la prise en compte des contraintes de leur métier. Jusqu'à aujourd'hui, en France, avec plus de 3 millions de poules en élevage, aucun évènement, à notre connaissance, n'a pu remettre en question l'innocuité des méthodes sur l'élevage des poulettes et sur la production d'œufs ultérieure.

Il reste néanmoins à déterminer dans quelle mesure ces approches y compris les approches spectroscopiques, non invasives n'ont pas d'impacts négatifs (stress/douleur) pour les embryons et à plus ou moins long terme pour les animaux. Cette question de la douleur reste omniprésente y compris dans la gestion des embryons mâles ovosexés qui devront être éliminés selon des techniques les plus acceptables possibles d'un point de vue éthique.

3.4 Gestion des œufs ovosexés mâles

Le choix de la technique d'élimination des œufs embryonnés dépendra du stade auquel l'ovosexage est réalisé et s'appuiera également sur la règlementation en vigueur. En effet, à l'échelle européenne, il n'existe pas de règlementation concernant les expérimentions sur œufs embryonnés, et ce, quel que soit leur stade de développement. Cependant, au regard des dernières réflexions concernant l'apparition de la nociception (Projet CASDAR YOONG, 2020-2022), et la dimension omniprésente de l'éthique de la production animale, il est fort à parier que de nouvelles consignes verront le jour dans les prochains mois. Aux USA, la IACUC (Institutional Animal Care and Use Committee) a mis à jour la réglementation concernant les embryons aviaires (mise en application depuis le 1er février 2021). Ainsi, les embryons ayant atteint plus de 80% de leur développement (>16 jours pour des embryons de poulet) sont dorénavant considérés comme des animaux vivants. En fonction du stade de développement, plusieurs techniques d'euthanasie sont autorisées tels que le CO_2, le refroidissement à 4°C pendant 4H ou par congélation pour des embryons <16 jours et CO_2, overdose d'anesthésiants ou décapitation pour les embryons >16 jours (https://policy.brown.edu/policy/avian-embryo-use).

Une fois triés, les œufs ovosexés à éliminer seront considérés comme déchets de couvoir et pourraient à priori suivre les mêmes circuits de valorisation que les poussins mâles actuellement éliminés (voir paragraphe 1.3) (Glatz et al., 2011).

4. ACCEPTABILITE SOCIETALE DES METHODES D'OVOSEXAGE

4.1 Point de vue des ONGs

Selon les ONGs animalistes françaises (CIWF, Wellfarm, OABA et LFDA), interrogées dans le cadre du CASDAR YOONG (2020-2022), l'élimination des poussins mâles n'est pas à proprement parler un problème de bien-être animal, mais plutôt une question éthique, reflet d'un productivisme qu'elles jugent inacceptable. Elles saluent le projet d'arrêt de l'élimination des poussins mâles en filière ponte mais reconnaissent que les priorités sont plutôt le mode d'élevage ou les conditions d'abattage.

L'alternative qui rassemble le plus de suffrage auprès des ONGs est l'élevage de souche à double fin qui permet de limiter le productivisme des filières avicoles et ce, malgré l'empreinte environnementale et le coût de ce type de production.

L'ovosexage est encouragée par les ONGs si des garanties sont apportées pour que l'embryon ne souffre pas et que les poussins « faux positifs-femelles » soient élevés dans des conditions assurant leur bien-être. Les ONGs souhaitent que l'Etat légifère sur ce sujet et ne permettront pas une mise en œuvre partielle.

4.2 Les professionnels de l'amont et de l'aval

En France, le déploiement du sexage *in ovo* en poules pondeuses engendrera un surcoût encore difficile à chiffrer précisément eu égard aux incertitudes sur l'efficacité des méthodes. En prenant en compte seulement les coûts de prestations, c'est 5% du chiffre d'affaires de la filière qui devra être répercuté chaque année sur le consommateur. A la boite d'œufs, l'investissement semble dérisoire, moins de 2 cts d'euros mais selon le circuit de commercialisation, la répercussion peut avoir des impacts radicalement différents. En France, 9 des 15 milliards d'œufs produits chaque année sont vendus avec leur coquille dans les GMS (grandes et moyennes surfaces), en restauration hors domicile (RHD) ou via le réseau de grossistes. Les œufs restants servent à l'industrie de première ou de deuxième transformation, passent par une casserie et sont vendus sous la forme d'ovoproduits, ingrédients des brioches, pâtes et autres biscuits.

Si les professionnels du marché de l'œuf coquille considèrent que la prise en charge et la répercussion des coûts de l'ovosexage est envisageable, il n'en est pas de même pour les opérateurs du marché des ovoproduits, très exposés à la concurrence européenne, ukrainienne voir américaine. Ces opérateurs précisent que l'inflation des coûts des matières premières, de l'énergie ou la remise en question des modes d'élevage sont déjà extrêmement difficiles à répercuter à leur client. La demande pour un œuf issu d'une poule ovosexée étant inexistante, sans une réglementation au minimum Européenne, les distorsions de concurrence engendrées par une nouvelle réglementation auraient des conséquences dramatiques sur leur capacité à s'approvisionner en œufs produits en France, ouvrant ainsi la porte à l'importation d'œufs dans une filière Française autosuffisante.

L'objectif des professionnels regroupés au CNPO (Comité National pour la Promotion de l'œuf), en étroite collaboration avec le Ministère de l'Agriculture, est de proposer un mode de financement permettant la prise en charge des coûts sans impacter l'éleveur et sans (trop) dégrader la compétitivité de la filière. Plusieurs stratégies sont à l'étude dans le cadre de la mise en œuvre du décret mettant fin à l'élimination des poussins mâles. Pour tous les professionnels, la question des coûts est centrale dans un contexte inflationniste où les difficultés rencontrées par certains secteurs de la restauration durant la crise de la COVID-19 rendent les discussions tarifaires difficiles.

Enfin, n'oublions pas les accouveurs qui aujourd'hui prévoient d'investir près de 15 millions d'euros en 2022 pour accueillir les machines d'ovosexage. Avec l'aide de l'Etat, dans le cadre du plan de relance, ils sont en première ligne pour la mise en œuvre de l'arrêt de l'élimination des poussins mâles et en assumeront les risques, en espérant une prise en charge des coûts et des pertes de productivité qu'engendrent ces méthodes. Ils espèrent également, l'absence d'effets collatéraux des évolutions réglementaires sur leurs marchés et leur compétitivité, y compris à l'export.

4.3 Les citoyens, le consommateur.

Si la question est éthique et l'inacceptabilité de l'élimination des poussins mâles fait consensus chez les professionnels, quelle est la position des consommateurs ? La connaissance de l'élimination des mâles semble largement ignorée, mais qu'en est-il réellement ? Est-il vraiment demandeur et surtout sera-t-il prêt à payer ?

Dans le cadre de son enquête annuelle (sondage CSA sur un échantillon représentatif de 1000 Français), le CNPO a interrogé les consommateurs Français sur la problématique de l'élimination des poussins mâles. Environ 50% des Français interrogés n'avaient pas conscience de l'élimination des mâles, une proportion proche des études néerlandaises récentes de Leenstra et al (2011), Gremmen et al (2018) et De Haas et al (2021).

En revanche, des études comparables montrent un degré supérieur de connaissance du sujet en Allemagne avec près de 70% des consommateurs informés (Busse et al, 2019 et Reithmayer et al, 2021a) mais une très faible connaissance du sujet en Suisse (25% de la population) alors que ce pays a été le premier à légiférer sur le broyage des poussins males en 2016 (Gangnat et al, 2016). L'Allemagne a été impactée dès 2016 par les campagnes de presse des ONGs mettant une très forte pression de l'opinion publique sur les professionnels et le gouvernement.

Dans les études les plus récentes, les consommateurs Français et Néerlandais interrogés sont 67% à estimer que l'élimination des poussins à un jour est inacceptable (Figure 1). L'effet d'une couverture médiatique importante sur le sujet se traduit par un renforcement de ce sentiment comme l'indique l'augmentation de 23% de la proportion d'Allemands trouvant l'élimination inacceptable entre 2016 et 2019 (de 67 à près de 90% ; Figure 1).

Qu'en est-il de l'acceptabilité des alternatives proposées aux consommateurs ?

La vision des consommateurs Australiens pour l'utilisation d'animaux modifiés génétiquement a été évaluée dans le contexte de l'arrêt de l'élimination des poussins mâles (Australia's National Science Agency, CSIRO ; 2020 https://research.csiro.au/synthetic-biology-fsp/wp-content/uploads/sites/140/2020/12/20-00137_LW_SynBioSurveyResults_Chicks_WEB_201113.pdf). C'est un 50/50 qui transparait de cette étude c'est-à-dire que la moitié des Australiens soutiennent plutôt cette méthode, une vision toute « normande » prolongée par la grande confiance affichée par les Australiens dans leurs scientifiques (près de 80% ont confiance dans la recherche) mais la grande méfiance dans l'utilisation qu'il pourrait être faite de la méthode: en effet 76% sont inquiets des conséquences pour l'homme et l'animal, et l'environnement, et 82% des Australiens ont des doutes sur la capacité de contrôle de cette technologie. Dans le cadre de l'élimination des poussins mâles, l'utilisation d'animaux génétiquement modifiés continue donc à faire débat même si l'utilité de la technologie est reconnue.

Pour les alternatives plus acceptables en Europe, les travaux de Reithmayer (2021a) indiquent que 24% des consommateurs allemands sont sensibles aux prix et finalement peu attentifs à la méthode, alors que 49% se déclarent en faveur de l'ovosexage. Plus intéressant, près de 27% d'entre eux privilégient les souches à double fin comme méthode de choix. Chez De Haas (2021), c'est l'ovosexage qui est largement plébiscité avec 51 à 57% des consommateurs favorables, devant l'élevage des frères de poules ou les souches à double fin qui finalement remportent assez peu de suffrages. Mais la validation des méthodes par le consommateur est également dépendant de l'image qu'il s'en fait, au sens propre comme au figuré, comme le démontre les travaux de Reithmayer et al, (2021b) qui en présentant ou non une photo d'embryon à 4 et 9 jours de développement embryonnaire, modifie la préférence exprimée par les consommateurs.

Le niveau d'éducation et de vie ont un effet sur les préférences des consommateurs. Dans les travaux de De Haas (2021), 8% des femmes dont le degré d'éducation est élevé ou 16% pour le reste de l'échantillon, ne veulent rien changer à la méthode actuelle d'élimination des poussins mâles. Un constat qui met en exergue la sensibilité au prix des consommateurs également mis en évidence par Reithmayer et al (2021a) dans le groupe qu'elle nomme « les économes » qui représente près de 24% de son échantillon.

La volonté/capacité à payer des consommateurs est également évaluée dans ces études. La majorité des consommateurs est prête à investir de 0,13 à 0,41 €/ boite de 10 œufs issus de poules ovosexées, largement au-delà du coût réel des méthodes mais attention cependant à l'écart qu'il existe entre la bonne volonté et l'acte réel d'achat (Reithmayer et al, 2019 ; De Hass et al, 2021).

CONCLUSION

Bien que la feuille de route pour la mise en place des outils d'ovosexage dans tous les couvoirs français n'a pas encore été légiférée à la date de rédaction de cette synthèse, l'Allemagne a voté, fin janvier 2021, un projet de loi interdisant l'élimination des poussins mâles à partir du 1er janvier 2022 et à partir du 1er janvier 2024, ces techniques devront permettre le sexage des œufs à moins de six jours de développement. L'introduction de techniques de sexage *in ovo* dans les couvoirs implique des coûts supplémentaires pour les producteurs qui devront également réorganiser la logistique, mais aussi pour les consommateurs qui paieront leurs œufs plus chers. Cependant, quelles que soient les réticences de certains et les incertitudes liées à ces changements, la transition est amorcée et reste inévitable. Le développement des méthodes de sexage dans l'œuf continue avec, à l'avenir, une précision et une précocité améliorées par la détection combinée de plusieurs caractères sexuels dimorphiques (anatomiques, moléculaires, phénotypiques). Avec l'utilisation des outils d'intelligence artificielle pour l'intégration et l'interprétation des données : l'ovosexage est un véritable défi technologique au service des exigences sociétales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agreste. Statistique agricole annuelle 2020. Chiffres et Données, N°14, Novembre 2021.

Bourin, M., Puterflam, J, Bouvarel, I. (2020). Avancées concernant les methodes d'ovosexage des poussins. TeMA n° 54

Bruin and Shutterheims, 2014. https://patentimages.storage.googleapis.com/d1/62/ac/ad0c7350f09cad/WO2014021715A2.pdf

Busse, M., Kernecker, M. L., Zscheischler, J., Zoll, F., & Siebert, R. (2019). Ethical concerns in poultry production: A German consumer survey about dual purpose chickens. Journal of Agricultural and Environmental Ethics, 32(5), 905-925.

CSIRO, Australia's National Science Agency, CSIRO ; 2020 https://research.csiro.au/synthetic-biology-fsp/wp-content/uploads/sites/140/2020/12/20-00137_LW_SynBioSurveyResults_Chicks_WEB_201113.pdf) .

De Haas, E. N., Oliemans, E., & van Gerwen, M. A. (2021). The Need for an Alternative to Culling Day-Old Male Layer Chicks: A Survey on Awareness, Alternatives, and the Willingness to Pay for Alternatives in a Selected Population of Dutch Citizens. Frontiers in veterinary science, 381.

European commission. EU market situation for eggs. 21 October 2021.

Gangnat, I. D., Mueller, S., Kreuzer, M., Messikommer, R. E., Siegrist, M., & Visschers, V. H. (2018). Swiss consumers' willingness to pay and attitudes regarding dual-purpose poultry and eggs. Poultry science, 97(3), 1089-1098.

Gautron, J., Réhault-Godbert, S., Van de Braak, T. G. H., & Dunn, I. C. (2021). What are the challenges facing the table egg industry in the next decades and what can be done to address them?. Animal, 100282.

Glatz, P., Miao, Z., & Rodda, B. (2011). Handling and treatment of poultry hatchery waste: A review. Sustainability, 3(1), 216-237.

Göhler, D., Fischer, B., Meissner, S., 2017. In-ovo sexing of 14-day-old chicken embryos by pattern analysis in hyperspectral images (VIS/NIR spectra): A non-destructive method for layer lines with gender-specific down feather color. Poult. Sci. 96, 1–4. https://doi.org/10.3382/ps/pew282

Gremmen, B., Bruijnis, M. R. N., Blok, V., & Stassen, E. N. (2018). A public survey on handling male chicks in the Dutch egg sector. Journal of Agricultural and Environmental Ethics, 31(1), 93-107.

Klein, S., & Grossmann, R. (2008). Primary sex ratio in fertilized chicken eggs (Gallus gallus domesticus) depends on reproductive age and selection. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, 309(1), 35-46.

Leenstra, F., Munnichs, G., Beekman, V., Van den Heuvel-Vromans, E., Aramyan, L., & Woelders, H. (2011). Killing day-old chicks? Public opinion regarding potential alternatives. Animal Welfare, 20(1), 37.

Mellor, D. J., & Diesch, T. J. (2007). Birth and hatching: key events in the onset of awareness in the lamb and chick. New Zealand veterinary journal, 55(2), 51-60.

Mueller, S., Kreuzer, M., Siegrist, M., Mannale, K., Messikommer, R. E., & Gangnat, I. D. (2018). Carcass and meat quality of dual-purpose chickens (Lohmann Dual, Belgian Malines, Schweizerhuhn) in comparison to broiler and layer chicken types. Poultry science, 97(9), 3325-3336.

Reithmayer, C., & Mußhoff, O. (2019). Consumer preferences for alternatives to chick culling in Germany. Poultry science, 98(10), 4539-4548.

Reithmayer, C., Danne, M., & Mußhoff, O. (2021a). Societal attitudes towards in ovo gender determination as an alternative to chick culling. Agribusiness, 37(2), 306-323.

Reithmayer, C., Danne, M., & Mußhoff, O. (2021b). Look at that ! The effect pictures have on consumer preferences for in ovo gender determination as an alternative to culling male chicks. Poultry science, 100(2), 643-653.

Weissmann, A., Foerster, A., Gottschalk, J., Reitemeier, S., Krautwald-Junghanns, M.-E., Preisinger, R., Einspanier, A., 2014. In ovo-gender identification in laying hen hybrids: Effects on hatching and production performance. Eur. Poult. Sci. 78. https://doi.org/10.1399/eps.2014.25

Weissmann, A., Reitemeier, S., Hahn, A., Gottschalk, J., Einspanier, A., 2013. Sexing domestic chicken before hatch: A new method for in ovo gender identification. Theriogenology 80, 199–205. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.04.014

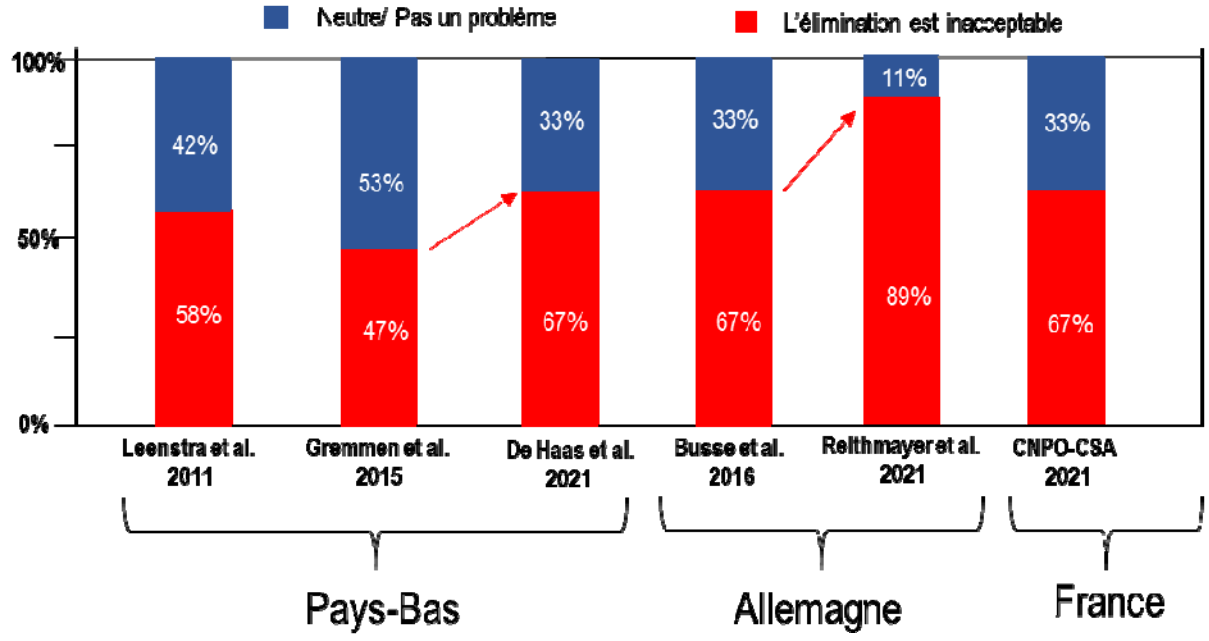
Tableau 1 : Données comparatives des principales méthodes d'ovosexage disponibles ou en cours de développement

Tableau 1 : Données comparatives des principales méthodes d'ovosexage disponibles ou en cours de développement

Fournisseur de méthode Age à l'ovosexage		Orbem	Cheggy AAT	Seleggt	Plantegg	ELLA In-Ovo
Principe		IRM / détection des gonades	Spectroscopie / couleur des plumes	Dosage sulfate d'oestrone	Polymerase chain reaction (PCR)	Dosage métabolites
Type de technique		Non invasive	Non invasive	Semi-invasive (prélèvement de liquide allantoidien)	Semi-invasive (prélèvement de liquide allantoidien)	Invasive
Jour d'incubation		14	13	9	9	9
Efficacité	Sensibilité (erreur)	< 5%	4%	2-3%	0,5%	< 5%
	Efficacité globale	NC	- 8%	NC	NC	NC
Adaptabilité	Souches	Toute souche	**Brunes uniquement**	Toute souche	Toute souche	Toute souche
	Calibre Œufs	Pas de data	Efficacité moindre pour œufs <50g	Pas de data	Pas de data	Pas de data
	Vitesse d'Ovosexage	900 œufs/h/machine en cours pour 3200 fin 2022	18-20 000 œufs/h	3 600 œufs/h	3 600 œufs/h	>6500 œufs/h
	Œufs Sales/fragiles	Réduit l'efficacité de la méthode, non quantifié				
Innocuité	Eclosabilité	Pas de données	Légèrement réduite	Augmentation de la durée d'incubation	Pas de données	Pas de données
Couts estimés*		**1 à 1,3€/poule**	**1€/poule**	**3,3€/poule**	**NC**	**NC**

* Prix de la prestation proposée par le fournisseur de méthode, sans prise en compte des investissements et perte de productivité

Figure 1 : Synthèse des études sur l'acceptabilité de l'élimination des poussins mâles (par les consommateurs néerlandais, allemands et français)



SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT - BIEN ETRE ANIMAL

Communications orales

L'IMAGERIE HYPER-SPECTRALE COMME OUTIL D'OVO-SEXAGE POUR LES EMBRYONS DES SOUCHES D'ŒUFS BRUNS

Une enquête terrain à grande échelle

Anke Förster, Laura Zumbrink, Jörg Hurlin

Agri Advanced Technologies GmbH - Hogenbögen 1 – 49429 VISBEK, Germany
anke.foerster@agri-at.com

RÉSUMÉ

Depuis plus de 15 ans, plusieurs approches permettant de déterminer le sexe d'un embryon ont fait l'objet de recherches : il s'agit notamment de méthodes invasives, basées sur le prélèvement de fluide extra-embryonnaire contenant de l´ADN (sexage moléculaire par PCR) ou une hormone sexuelle spécifique, ou de méthodes optiques sans contact. La méthode d'imagerie hyper-spectrale est basée sur le dimorphisme sexuel de la couleur du plumage des souches à œufs bruns. La différence entre la femelle et le mâle peut être détectée à travers la coquille, avec une grande précision et de manière non invasive au 13ème jour d'incubation. Une méthode d'ovo-sexage efficace, doit être précise et sûre, mais aussi rentable et suffisamment rapide pour répondre aux exigences des couvoirs modernes. Un système entièrement automatisé utilisant la technologie d'imagerie hyper-spectrale a donc été mis au point, en préservant un taux d'éclosion élevé. L'objet de cette étude est de faire une enquête terrain à grande échelle sur la faisabilité et la fiabilité de ce système automatisé dans les couvoirs commerciaux, afin d'optimiser le fonctionnement et de déterminer les éléments qui influent sur son efficacité. Les paramètres biologiques et techniques, tels que la souche, l'âge du troupeau ou nombre d'œufs clairs ont été examinés comme étant les principaux facteurs influençant le résultat de l'ovo-sexage. Dans des conditions optimales, une précision de 98,8 % peut être atteinte (taux d'erreur moyen de sexage de 4,1 %). Le taux d'éclosion moyen était de 39,1 %, contre 41,9 % attendus (c'est-à-dire en absence d'ovosexage). La technologie d'imagerie hyper-spectrale est une méthode efficace pour éviter l'élimination des poussins mâles dans le respect du bien-être animal et de l'environnement. Après plus de 12 mois d'expérience avec le système à haut rendement entièrement automatisé CHEGGY, des conclusions fiables et des préconisations peuvent être fournies aux couvoirs commerciaux pour leur permettre d'obtenir les meilleurs résultats.

ABSTRACT

Hyperspectral Imaging as a tool for in ovo sex determination of chicken layer embryos – a largescale field study

For more than 15 years, several approaches to determine an embryo's sex are objects of research: these include invasive methods based on the sampling of extra-embryonic fluid that contains DNA (for molecular sexing by PCR) or sex-specific hormones, and contactless optical methods like Hyperspectral Imaging or Spectroscopy. The method of Hyperspectral Imaging is based on the sexual dimorphism in feather color in brown egg strains. The difference between brown female and yellow-white male chicks can be detected non-invasively through the intact eggshell with high accuracy on day 13 of incubation. A practicable method for in ovo sex determination must be accurate and secure, but also robust, cost-effective, and fast enough to meet the requirements of modern hatcheries. So, a fully automated system using Hyperspectral Imaging technology was developed with a high through-put of hatching eggs. The object of this study is a largescale field survey of the applicability and accuracy of this automated system in commercial hatcheries to optimize operation and find factors that negatively affect its success. Biological and technical parameters like breed, age of flock, number of clear eggs were found to have an influence on the success of in ovo sex determination. With optimum conditions, a sexing accuracy of 98.8% can be achieved (average sexing error rate 4.1 %). Average female hatchability of eggs was 39.1%, compared to 41.9% expected (when eggs are not subjected to in ovo sexing).

Hyperspectral Imaging technology is an important method to avoid the killing of day-old males in an animal welfare and environmentally friendly manner. After more than 12 months of experience with the fully automated, high-throughput system CHEGGY, reliable conclusions and recommendations can be made for commercial hatcheries to reach the best results.

INTRODUCTION

En juillet 2021, le ministère français de l'Agriculture a annoncé que la France interdirait l'élimination des poussins mâles de la filière œufs à partir de 2022, ce qui a accéléré la recherche d'alternatives. Comparé à l'élevage des mâles (frères de pondeuses, actuellement éliminés) ou à la production de souches mixtes (élevage des femelles pour la ponte et des mâles pour la viande), l'ovo-sexage est l'alternative la mieux adaptée. Depuis près de 20 ans, plusieurs approches permettant de déterminer le sexe d'un embryon ont fait l'objet de recherches. L'éventail va de l'édition de gènes (animaux OGM) et de l'identification de paramètres permettant d'influencer le sex-ratio en faveur des femelles, à diverses méthodes d'analyse du liquide allantoïque (analyse des hormones ou de l'ADN) et à des méthodes optiques (spectroscopie). Pour être appliquée commercialement, une technique d'ovo-sexage doit être précise et sûre, mais aussi robuste, rentable et suffisamment rapide pour répondre aux exigences des couvoirs modernes (Kaleta et Redmann, 2008). Une méthode actuellement prête à être commercialisée pour l'ovo-sexage est l'imagerie hyper-spectrale décrite par Göhler et al. (2017). Basée sur le dimorphisme sexuel de la couleur du plumage des souches d'œufs bruns, cette technique détecte les différences entre les poussins femelles bruns et les poussins mâles blancs-jaunes de manière non invasive à travers la coquille d'œuf intacte, avec une grande précision au 13ème jour de l'incubation. Un système entièrement automatisé à haut débit d'œufs à couver ("CHEGGY") a été mis au point dans plusieurs couvoirs commerciaux. Les résultats du sexage et de l'éclosion sont collectés régulièrement dans une base de données. Ils ont été exploités dans cette étude pour une enquête de terrain à grande échelle sur l'applicabilité et la précision du système dans les couvoirs commerciaux, afin d'optimiser le fonctionnement et de trouver les facteurs impactant son taux de succès.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Imagerie hyper-spectrale

L'imagerie hyper-spectrale a été utilisée pour détecter le sexe de l'embryon au 13ème jour d'incubation. Cette technique permet de capturer des images tridimensionnelles en mesurant simultanément l'intensité du rayonnement à chaque pixel d'un échantillon : deux dimensions représentent l'information spatiale et une dimension représente l'information spectrale de l'ensemble du spectre (Bellon-Maurel et Gorretta, 2014). Sur la base du facteur Or/Argent lié au sexe utilisé en génétique des souches d´œufs bruns, les mâles ont un plumage argenté/blanc et les femelles un plumage or/brun (Malone et Smyth, 1979 ; Smyth, 1990 ; Damme et Hildebrand, 2002). Une fois que les premières plumes acquièrent leur couleur, il est possible d'effectuer un sexage par en mesurant la couleur de l'embryon grâce à l'imagerie hyper-spectrale (Göhler et al., 2017). À l'intérieur d'une chambre de mesure fermée, un nombre défini d'œufs à couver de 13^{ième} jour est éclairé par le bas avec des lampes halogènes, tandis qu'une caméra hyper-spectrale capture l'image des œufs pendant quelques secondes. À l'aide d'un algorithme spécifique basé sur un modèle paramétrique, l'ordinateur détecte automatiquement les œufs clairs (non fécondés et morts précocement) ainsi que le sexe des embryons contenus dans les œufs. Les œufs contenant des embryons femelles sont replacés dans les plateaux d'incubation et sont incubés jusqu'à l'éclosion, tandis que les œufs clairs et les œufs contenant des embryons mâles sont triés pour être utilisés dans la production d'aliments pour animaux.

1.2. Base de données

Dans cette étude, les données de 49 éclosions d'un couvoir commercial en France, comprenant cinq souches brunes différentes et 22 troupeaux reproducteurs entre 24 et 67 semaines d'âge ont été évaluées. Au total, 1,61 millions d'œufs ont été sexés, l'âge des œufs variant entre 3 et 20 jours de stockage avant l'incubation et l'âge des embryons au moment du sexage entre 325 et 334 heures d'incubation. Le nombre d'œufs pondus, de femelles écloses et de mâles par éclosion a été utilisé pour calculer les variables d'intérêt :

% Erreurs de sexage = Nombre de mâles éclos / Nombre total de poussins éclos, comme mesure de précision de la technique.

% d´éclosion = Nombre total de poussins éclos / nombre d´œufs incubés, comme mesure d´éclosabilité.

% d´éclosion des œufs transférés = nombre de poussins éclos / nombre d´œufs incubés après sexage, comme mesure pour éclosabilité après sexage.

% Femelles écloses = nombre de femelles éclos / nombre d´œufs incubés, comme paramètre de production à intérêt économique.

Œufs à couver (OAC) par femelle = Nombre d'œufs à couver nécessaires pour obtenir un poussin femelle (calculé comme 1 / % Éclosion) comme paramètre de production à intérêt économique.

Comme facteurs d'influence possibles sur la précision du sexage, les variables indépendantes "souche" et "âge des reproducteurs", "âge moyen des œufs au moment de la mise en incubation" (jours de stockage), "âge de l'embryon au moment du sexage" (heures d'incubation), et "% d'œufs rejetés" (= œufs clairs tels que détectés par CHEGGY) ont été évalués à l'aide de statistiques descriptives. Les paramètres de localisation, les mesures de variation et les corrélations entre les variables ont été calculés avec les progiciels statistiques Stata et Excel. Les

graphiques d'analyse de régression sont utilisés pour visualiser les facteurs d'influence sur la précision de la technique de sexage hyper-spectrale. Le niveau de signification a été fixé à $p < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 1 montre le nombre d'éclosions et d'œufs par souche ainsi que la moyenne de la précision du sexage (% d'erreur de sexage) et de l'éclosion (% d'éclosion totale de tous les œufs pondus) par souche. Étant donné que le % d'éclosion des femelles est influencé par le % d'erreur de sexage (plus l'erreur de sexage est élevée, plus le % d'éclosion des femelles diminue), le % d'éclosion totale des œufs pondus est plus approprié pour juger de l'éclosion et des pertes techniques éventuelles. L'éclosion des œufs après manipulation est élevée (91,4 % - 95,4 %), ce qui indique une très faible perte par la technique de sexage et de manipulation des œufs comparé aux valeurs temoins des mêmes troupeaux non-sexés. L'erreur moyenne de sexage se situe entre 3,5 % et 4,4 %, ce qui montre une bonne applicabilité dans différentes souches brunes.

Les facteurs biologiques et techniques tels que la souche ou l'âge du troupeau ont été supposés être les principaux contributeurs au succès de la détermination du sexe in ovo. Comme les données proviennent d'un couvoir commercial, le nombre d'entrées par souche est déséquilibré et la grande majorité des données ne concernent que deux souches.

Les différences d'erreurs de sexage entre les souches ne sont pas significatives, ce qui indique que la technique d'imagerie hyper-spectrale est applicable à différentes souches d'œufs bruns. Tableau 2 montre les paramètres spécifiques de la population pour les deux souches ayant une taille d'échantillon comparable.

La corrélation entre l'âge du troupeau ainsi que l'âge de l'embryon et le % d'erreur de sexage est très faible ($r = 0,05$ et $r = 0,08$ respectivement), tandis que la corrélation entre l'âge de l'œuf (durée de stockage avant la mise en place) et le % d'erreur de sexage est plus élevée (($r = 0,24$) (voir tableau 3 et fig. 1)). Cette corrélation positive indique qu'avec un stockage plus long avant la mise en incubation, il faut s'attendre à davantage d'erreurs de sexage.

La corrélation positive entre le % d'œufs rejetés et le % d'erreur de sexage ($r = 0,27$) n'est pas un facteur biologique, mais technique : un nombre plus élevé d'œufs clairs ou d'œufs à mortalité précoce influence l'intensité lumineuse dans la chambre de mesure et provoque plus d'erreurs dues à la saturation du signal (fig. 2).

Les troupeaux reproducteurs d'un âge compris entre 25 et (au moins) 67 semaines peuvent être sexés par imagerie hyper-spectrale avec des niveaux faibles et constants d'erreurs de sexage. Un âge embryonnaire compris entre 324 et 335 heures est optimal pour le sexage. L'impact d'une déviation nécessiterait des études supplémentaires incluant une gamme plus large d'heures d'incubation ainsi que des troupeaux de reproducteurs plus âgés.

La comparaison des résultats de cette étude avec les données d'autres techniques d'ovo-sexage n'est pas possible, puisque jusqu'à présent aucune étude de ce type n'est publiée ou disponible. La base de données sur laquelle repose cette étude est actualisée au jour le jour, ce qui permet d'étendre les analyses à une plus grande base de données. Il sera ainsi possible, le cas échéant, d'acquérir des connaissances sur d'autres facteurs d'influence et des effectifs plus grands des autres souches brunes ou d'identifier, par exemple, l'influence d'un âge très élevé du troupeau sur la précision de l'ovo-sexage.

CONCLUSION

En résumé, l'imagerie hyper-spectrale est une méthodologie importante pour éviter la mise à mort des poussins mâles d'un jour dans le respect du bien-être animal et de l'environnement. Après plus de 12 mois d'expérience avec le système entièrement automatisé à haut débit, des conclusions et des recommandations peuvent être faites pour les couvoirs commerciaux, afin d'obtenir les meilleurs résultats. Dans des conditions optimales (âge des reproducteurs environ entre 30 et 60 semaines, temps de stockage moins de 10 jours, taux d'œufs rejetés moins de 10 %), une précision de sexage de 98,8% peut être atteinte (taux d'erreur moyen de sexage de 4,1%). L'éclosion moyenne des femelles sur les œufs pondus était de 38,0 %, contre 41,9 % attendus. En raison de ce faible effet négatif de la technique d'ovo-sexage sur le rendement des femelles, seule une faible demande supplémentaire d'œufs à couver est nécessaire (< 10% d'œufs à couver supplémentaires).

La procédure est non invasive (à priori sans danger pour l'embryon) et permet de conserver la coquille d'œuf intacte. Sur la base des différences dans les spectres lumineux mesurés, un algorithme classifie le sexe. Cet algorithme peut et doit être vérifié et adapté de temps en temps, et différents algorithmes peuvent être utilisés, par exemple pour différentes souches. L'algorithme doit toutefois être adapté à la majorité des œufs mesurés.

Outre la détermination du sexe, les œufs non fécondés sont également identifiés et triés en même temps. La technologie de mesure hyper-spectrale ne nécessite pas de consommables coûteux, ce qui rend cette technique nettement moins chère que les autres méthodes et, surtout, plus respectueuse de l'environnement. Combiné à un débit élevé de 20.000 œufs/heure, contre 3.000 à 4.000 œufs/heure pour les autres techniques, CHEGGY est une solution hautement durable et efficace sur le marché pour éviter l'abattage des poussins.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bellon-Maurel, V., Gorretta, N., 2014. In: Infrared and Raman Spectroscopic Imaging. Salzer, R., Siesler, H.W. (éditeur), John Wiley & Sons, Weinheim, 295-338.
Damme, K., Hildebrand, R.A., 2002. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
Göhler, D., Fischer B., Meissner, S., 2017. Poult.Sci., (96), 1-4.
Kaleta, E.F., Redmann, T., 2008. World. Poult. Sci. J. 64, 391-399
Malone, G.W., Smyth, J.R., 1979. Poult.Sci., **58**(3), 489-497.
Smyth, J.R., 1990: Genetics of plumage, skin and eye pigmentation. In: Poultry breeding and genetics. Crawford, R.D. (éditeur), 109-167, Elsevier, Amsterdam.

Tableau 1. Nombre d'éclosions par souche, éclosabilité moyenne et erreur de sexage

Souche	Nombre D´éclosions	Nombre D´oeufs incubés	% Eclosion	% Erreurs de sexage
Lohmann Brown	22	657939	39,1%	4,4%
Hy-Line Brown	18	726472	40,6%	3,8%
Brown Nick	4	158400	43,2%	4,3%
ISA Brown	4	62541	35,1%	3,5%
Novogen Brown	1	3300	38,6%	4,1%
Total	49	1608652	39,6%	4,1%

Tableau 2. Paramètres spécifiques de la population pour deux souches

	% Erreurs de sexage		% Eclosion des oeufs incubés		OAC/fem	
	Hy-Line	LB	Hy-Line	LB	Hy-Line	LB
N	18	22	18	22	18	22
Average	3,8%	4,4%	40,6%	39,1%	2,57	2,73
Std dev	2,0%	1,5%	2,9%	4,8%	0,19	0,45
Min	1,2%	1,4%	35,7%	24,8%	2,31	2,33
Max	8,5%	7,4%	44,7%	46,4%	2,91	4,33
Median	3,0%	3,9%	40,9%	39,9%	2,55	2,61

Tableau 3. Corrélation entre les variables (toutes souches)

	% Erreurs Sexage	% Eclosion du transfert	% Eclosion des œufs incubés	% Eclosion fem	OAC/fem	% Groupe Rejeté	Souche	Age des repros	Age des Œufs	Age embryon
% Erreurs de sexage	1									
% Eclosion du transfert	**-0,48**	1								
% Eclosion des œufs incubés	0,03	0,47	1							
% Eclosion fem	-0,12	0,54	0,99	1						
OAC/fem	0,18	-0,54	-0,96	-0,98	1					
% Groupe Rejeté	0,24	-0,25	**-0,55**	**-0,59**	**0,56**	1				
Souche	-0,13	0,22	-0,06	-0,04	0,02	0,28	1			
Age des Repros	0,05	-0,30	**-0,49**	**-0,49**	**0,47**	**0,54**	-0,09	1		
Age des Œufs	**0,50**	**-0,69**	-0,14	-0,21	0,23	-0,04	-0,46	-0,10	1	
Age embryon	0,08	0,12	0,23	0,21	-0,21	0,09	0,12	0,02	-0,06	1

Figure 1. Régression de l'âge de l'œuf sur l'erreur de sexage

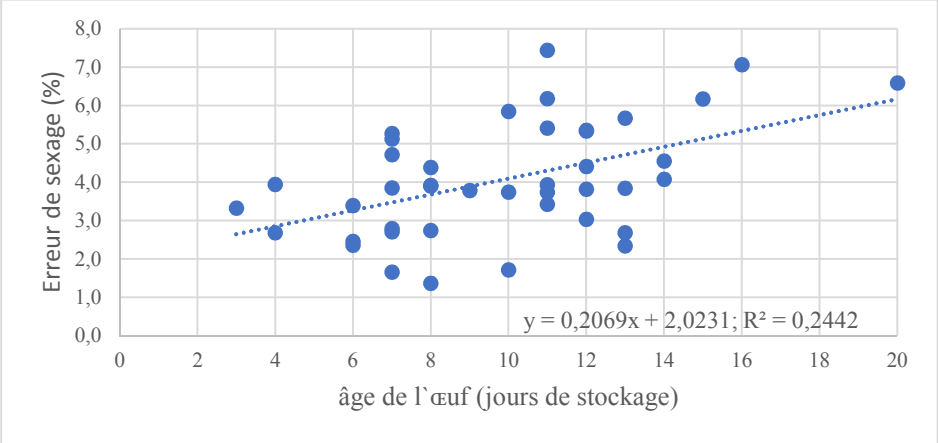
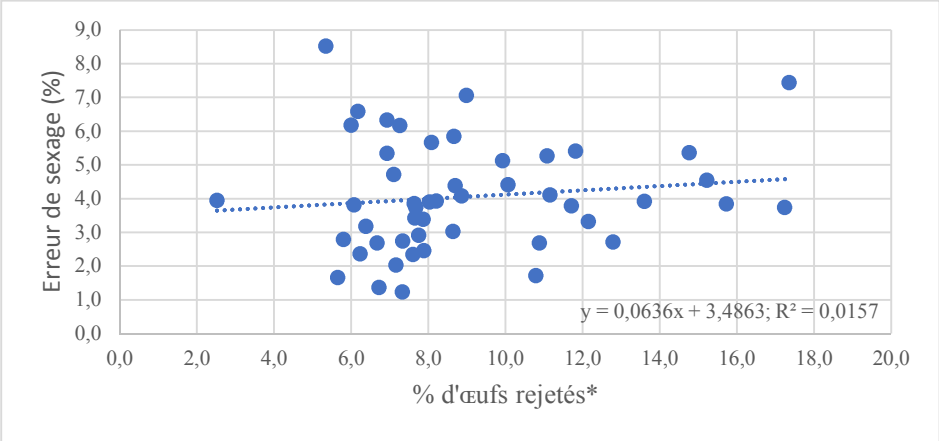


Figure 2. Régression du % de groupe rejeté* sur l'erreur de sexage



*des œufs clairs et des morts précoces détectés par CHEGGY

ANESTHESIE ELECTRIQUE D'EMBRYONS DE POUSSINS MALES AU DEUXIEME TIERS DE L'INCUBATION DANS LE RESPECT DU BIEN-ETRE ANIMAL

-

DE LA RECHERCHE FONDAMENTALE A LA PRATIQUE A HAUT RENDEMENT

Laura Zumbrink[1], Anke Förster[1], Jörg Hurlin[1]

[1]*Agri Advanced Technologies GmbH - Hogenbögen 1 – 49429 VISBEK, Germany*
laura.zumbrink@agri-at.com

RÉSUMÉ

Pour mettre fin à l'élimination des poussins mâles d'un jour, des méthodes d'identification rapides et fiables du sexe de l'embryon avant le développement d'une sensibilité à la douleur ont été recherchées. Si diverses études excluent la sensation de douleur avant le 7e jour d'incubation, il n'existe aucune donnée fiable du 7e au 15e jour. Aucune méthode de sexage in ovo commercialisable, actuellement utilisée, n'est applicable avant le 7e jour d'incubation. La question se pose : comment traiter les embryons mâles écartés après le 7e jour d'incubation. Un flux électrique a été étudié pour anesthésier des embryons mâles afin d'éviter une éventuelle sensation de douleur pendant la fin du développement. Un courant de 110 V AC a été appliqué pendant 2 secondes à 304 et 56 œufs embryonnés. Après étude statistique, les réactions associées à une éventuelle conscience de la douleur étaient absentes chez 99,3 % des embryons examinés. Sur la base de ces résultats, le système "STUNNY" a été construit par AAT GmbH, en Allemagne, et testé dans un couvoir français. Cette étude terrain a confirmé qu'il est possible d'anesthésier les embryons dans le respect des exigences du bien-être animal. L'unité d'étourdissement à haut débit est associée à l'unité hyperspectrale de détermination du sexe in ovo pour une manipulation respectueuse des embryons mâles, et constitue ainsi une étape importante pour le respect du bien-être animal dans l'industrie des poules pondeuses.

ABSTRACT

Electrical anaesthesia of male chicken embryos in the second third of the incubation in compliance with animal welfare – from basic research to high-throughput operation

As the killing of male day-old chicks should be ended as soon as possible, practical methods are being sought to reliably and quickly determine the sex of the embryo before pain sensitivity is developed. While various studies exclude pain sensation in the first third of incubation, there is no clear evidence on pain sensation in the period from day 7 to 15. None of the currently used market-ready methods of in ovo sex determination is applicable in the first trimester. The question arises as how to handle the rejected male embryos in methods that are used from day 7 of incubation onwards. Electrical current flow was investigated as a method for anaesthesia of chicken embryos to avoid a possible pain sensation during the ending of the development. A current flow at 110 V AC was applied for 2 seconds to 304 and 56 embryonated eggs. The results were evaluated using descriptive statistics. Under these conditions embryonic reactions associated with possible awareness of pain were absent in 99.3% of the examined embryos. Based on these findings the high-throughput system for practical use "STUNNY" was constructed by AAT GmbH, Germany, which was tested in a French hatchery. This practical study confirmed that embryos can be anesthetised in compliance with animal welfare requirements using the method of electrical anaesthesia with a high-throughput system. The stunning unit complements the hyperspectral in ovo sex determination unit by respectful handling of male embryos, and thus provides an important further step for welfare-friendliness in the laying hen industry.

INTRODUCTION

Les méthodes actuellement commercialisées pour la détermination du sexe in ovo des poules pondeuses sont mises en œuvre au deuxième tiers de l'incubation (Bourin et al., 2020 ; Preisinger, 2020 ; Richard, 2020). Il a été scientifiquement prouvé que la douleur n'est pas perceptible par les embryons au cours du premier tiers de l'incubation et qu'elle existe au troisième tiers. Pour le deuxième tiers (jour 7 à 14), il n'est pas certain que la douleur soit perceptible (Chumak, 1961 ; Mellor et Diesch, 2007 ; Bjørnstad et al., 2015 ; Deutscher Bundestag, 2017 ; Bartels et al., 2020). Une procédure d'étourdissement doit être utilisée pour insensibiliser les embryons avant élimination. Le règlement CE n° 1099/2009 autorise l'étourdissement et la mise à mort simultanés par perturbation mécanique. Cependant, cette méthode, perçue comme immorale n'est plus acceptée par la société (Hirt, 2004 ; Leenstra et al., 2011). On cherche donc une nouvelle méthode d'étourdissement qui soit plus humaine du point de vue du bien-être animal et qui soit mieux acceptée par la société.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Développement du concept d'étourdissement

Une des méthodes actuellement commercialisée pour la détermination du sexe in ovo est l'imagerie hyperspectrale pour les lignées de pondeuses issues de génotypes dont la couleur de plumage est liée au sexe, au 13^{ième} jour d'incubation, comme décrit par Göhler et al. (2017). Les méthodes d'étourdissement envisagées sont le courant électrique, le CO_2, la basse pression et l'utilisation d'anesthésiques. Différentes approches d'étourdissement électrique ont été testées afin de trouver une méthode applicable aux embryons mâles.

L'étourdissement en bain d'eau électrisée est une procédure courante chez les poulets de chair et les poissons (Prinz et al., 2012 ; Reimers, 2008 ; Retter, 2014). Ce système d'étourdissement a été testé sur des œufs embryonnés placés entre deux électrodes à plaques dans un bassin d'eau. Dans une deuxième approche, une électrode a été appliquée sur chaque pôle, à l'extérieur de la coquille de l'œuf. Ces deux méthodes se sont avérées inappropriées car la coquille protège efficacement l'embryon. La perforation de la coquille avec une électrode sur chaque pôle est nécessaire pour conduire le flux électrique vers l'embryon (Fig. 1). Les premières expériences ont montré des résultats très prometteurs avec un flux de 2 secondes à 110 V et 50 Hz sinusoïdal. Par conséquent, un dispositif manuel a été mis au point, afin de contrôler les profondeurs de pénétration des électrodes pour différentes tailles d'œufs.

1.2 Preuve de concept

Deux essais ont permis de vérifier l'adéquation du concept d'étourdissement dans des conditions de laboratoire. Pour les deux essais, des œufs à couver Lohmann Brown (respectivement 298 et 49 œufs dans les essais 1 et 2) au 13^{ième} jour d'incubation ont été testés. Le rythme cardiaque des embryons a été mesuré à l'aide d'un oscillographe et la température de la coquille avec un thermomètre infrarouge. Chaque œuf a été placé sur le banc d'essai et les électrodes ont été insérées à travers la coquille de l'œuf à chaque pôle. Pendant l'application de 2 secondes, l'intensité du courant a été enregistrée. Après le traitement, la coquille a été ouverte et l'embryon, le liquide et le jaune ont été placés sur une boîte de Pétri. Les embryons ont été évalués visuellement pendant au moins 60 secondes selon les critères suivants : ouverture du bec, mouvement de la tête, des ailes, des doigts/des pattes et réaction à une stimulation mécanique avec une pince. Dans l'essai 1, 13 œufs de l'échantillon non traités ont été évalués comme témoins. Un embryon était considéré anesthésié avec succès s'il ne présentait pas de mouvements spontanés ou de réactions à la stimulation mécanique.

La deuxième série d'essais a été menée pour déterminer si les électrodes pouvaient toucher et blesser l'embryon. À cette fin, le courant électrique a été appliqué à des œufs pré-percés sur le banc d'essai orienté horizontalement. Avant le déclenchement du flux électrique, des parties de la coquille de l'œuf ont été retirées afin de permettre l'observation de l'embryon. À part cela, la procédure était la même que pour le premier essai. Des études statistiques ont été utilisées pour déterminer les paramètres de distribution et les mesures de variation des variables (Tableau 1). En appliquant le tableau de contingence, le test du khi-deux et les mesures d'association phi et V de Cramer, il a été déterminé si les variables indépendantes "battement de cœur", "courant maximal" et "température de l'œuf" avaient chacune un impact significatif sur la variable dépendante, le résultat de l'anesthésie. La régression logistique binaire a examiné l'association des trois variables indépendantes (rythme cardiaque, courant, température) avec la variable dépendante codée binaire (résultat de l'anesthésie). En outre, les cinq critères ont été évalués et comparés entre eux à l'aide des mesures d'association phi et V de Cramer. Le niveau de signification a été fixé à $p < 0,05$.

1.3 Unité d'étourdissement à haut débit

Les résultats de ces essais ont servi de base pour développer un système à haut débit entièrement automatisé, actuellement utilisé dans les couvoirs. En collaboration avec un institut indépendant pour le bien-être animal (bsi Schwarzenbek), le système à haut débit a été évalué sur la base d'examens cliniques d'embryons et de l'analyse des cadences. Des échantillons d'œufs ont été examinés cliniquement après le traitement. L'intensité électrique du dispositif a été vérifiée avec des appareils externes et de nombreux tests de perforations de coquille ont été mesurés (cf. von Wenzlawowicz, 2021).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Dans la première série d'expériences, 99,3 % des embryons traités ont été classés comme ayant été anesthésiés avec succès (tableau 2). Chez 29 embryons (10,1 %), des mouvements ont été observés,

cependant, ces embryons ont été considérés comme anesthésiés car les mouvements différaient significativement de ceux d'un embryon non traité. Les mouvements étaient saccadés et n'ont duré que 3,5 secondes (en moyenne) après le retrait des embryons de l'œuf, ils ont donc été considérés comme des réflexes et non comme un mouvement conscient.
Pour les variables "rythme cardiaque", "courant maximal" et "température de l'œuf", aucune corrélation significative n'a été établie avec le résultat de l'anesthésie. Les groupes traités et témoins différaient significativement dans les cinq critères d'évaluation. Les cinq critères étaient fortement associés au traitement. Dans la deuxième série de tests, aucune blessure causée par les électrodes n'a été détectée chez les embryons observés. À travers la fenêtre réalisée dans la coquille, on a observé que les embryons manifestaient une courte crampe pendant le passage du courant, après quoi ils étaient inanimés Cependant, la fenêtre ne pouvait être réalisée dans le montage expérimental qu'après que les électrodes aient pénétré dans la coquille de l'œuf. Aucune lésion de l'embryon avant la perfusion électrique n'a été observée. (Zumbrink et al., 2020). Sur 49 traitements, 48 embryons ont été classés comme ayant été anesthésiés avec succès (tableau 3). Après le traitement dans la machine à haut débit, les embryons examinés cliniquement ont été considérés comme anesthésiés avec succès en raison de l'absence de mouvements et de réactions, selon Zumbrink et al. (2020). Le niveau de réussite de la machine n'a pas pu être représenté de manière analogue aux essais. Pour la machine, la fonctionnalité, les valeurs mesurées et la documentation ont été essentiellement testées. Seul un petit échantillon d'embryons a été examiné visuellement, comme lors des essais. Cependant, étant donné que la machine fonctionne de manière fiable selon la procédure conçue lors de l'essai, on peut supposer un niveau d'efficacité tout aussi élevé (>99%). Dans son ensemble, l'appareil d'étourdissement a été jugé conforme pour un étourdissement efficace des embryons dans l'œuf au 13^{ième} jour d'incubation. D'un point de vue pratique, l'étourdissement et la mise à mort simultanés par perturbation mécanique est non seulement autorisée par la loi (Règlement CE 1099/2009 ; TierSchlV), mais elle est également considérée comme un moyen rapide et sûr de mettre fin au développement embryonnaire sans souffrance (Jaksch, 1981 ; Bandow, 1987, loc. Cit. à Close et al., 1997 ; Hirt, 2004 ; AVMA ; 2020). Cependant, cette pratique est souvent jugée contraire à la déontologie (Jaksch, 1981 ; Gassmann-Langmoen et Schatzmann, 1990, loc. Cit. à Hirt, 2004). Les personnes interrogées dans les sondages préfèrent majoritairement l'utilisation du CO2 (Leenstra et al., 2011), bien que cette dernière soit critiquée d'un point de vue scientifique (Schatzmann 1997, loc. Cit. to Hirt, 2004; Hirt, 2004; Lourens and Gerritzen, 2009). Le gaz et la réfrigération n'ont pas été utilisés parce que les procédures prennent beaucoup de temps et que le moment de l'étourdissement ou de la mort ne peut être clairement identifié (Lourens et Gerritzen, 2009, AVMA, 2020). Il en va de même pour la basse pression atmosphérique (Battula et al., 2008 ; Vizzier-Thaxton et al., 2010 ; Schilling et al., 2012 ; Mckeegan et al., 2013). L'utilisation d'anesthésiants est d'une part coûteuse et d'autre part, ne permet pas l'utilisation des sous-produits dans les aliments pour animaux ou les aliments pour animaux de compagnie (AVMA, 2020). L'utilisation des résidus d'œufs à couver comme source de protéines de haute qualité est considérée comme pertinente par les personnes sondées (Leenstra et al., 2011) et rend le processus particulièrement durable et économe en ressources. Les résidus issus de l'étourdissement électrique sont, selon le règlement CE 1069/2009, classés en catégorie 3 et peuvent donc être utilisés comme source de protéines de haute qualité dans les aliments pour animaux. Les réflexes tels que le réflexe cornéen, qui peut être utilisé chez les oiseaux pour évaluer le niveau de narcotique (Heatley, 2008 loc. Cit. à Lierz et Korbel, 2012), ne sont pas encore développés chez les embryons au 13^{ième} jour d'incubation. A l'inverse, Prinz et al. (2012) ont conclu que les réflexes ne peuvent pas être utilisés pour évaluer l'état d'anesthésie des poulets de chair. Cependant, cet essai porte sur des embryons et un EEG ne peut être mesuré à cet âge (Mellor et Diesch, 2007). Selon Chumak (1961) et Aleksandrowicz et Herr (2015), l'absence d'ouverture du bec, de mouvements de la tête, des ailes, des doigts ou des pattes et de réaction à une stimulation mécanique peuvent servir de base pour évaluer la réussite de l'anesthésie. Les cinq critères retenus se sont avérés très pertinents pour l'évaluation. L'évaluation statistique avec phi et V de Cramers a montré une forte corrélation entre le traitement et les cinq critères ($r = 0,872$ pour l'ouverture du bec et $r = 0,959$ pour les quatre autres critères).
Zumbrink et al. (2020) ont conclu que la mesure de l'ampérage en tant que moyenne quadratique donne des valeurs plus fiables que les mesures de la valeur maximale qu'ils ont utilisées. Par conséquent, la mesure de la moyenne quadratique a été mise en œuvre pour la machine à haut débit. Aucune des études n'a permis de déterminer une valeur seuil, un résultat efficace est obtenu avec un courant électrique stable généré pendant les deux secondes. (Zumbrink et al., 2020 ; von Wenzlawowicz, 2021).

CONCLUSION

En résumé, l'étourdissement électrique décrit dans cet article permet une anesthésie rapide, respectueuse et reconnue des embryons mâles dans l'œuf et a pour but de les mettre dans un état d'insensibilité temporaire avant élimination. Ils sont ainsi protégés de la perception de la douleur. La perfusion des œufs avec une tension appliquée de 110 volts peut garantir cet état. L'étude du système à haut débit a permis de conclure que la technologie entièrement automatisée met en œuvre le concept d'étourdissement comme il se doit et convient donc aux embryons de poussins mâles au cours du deuxième tiers de l'incubation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aleksandrowicz, E., Herr, I., 2015. ALTEX 32(2), 143-147.
American Veterinary Medical Association (AVMA), 2020.
Bandow, J.H., 1987. Report for the Canadian Federation of Humane Societies, Ontario, Canada.
Bartels, T., Wilk, I., Schrader, L., 2020. Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald – Insel Riems.
Battula, V., Schilling, M. W., Vizzier-Thaxton, Y., Behrends, J. M., Williams, J. B., Schmidt, T. B., 2008. Poult.Sci., 87(6), 1202-1210.
Bjørnstad, S., Austdal, L. P. E., Roald, B., Glover, J. C., Paulsen, R. E., 2015. J.Pharmacol.Exp.Ther., (355), 386-396.
Bourin, M., Puterflam, J., Bouvarel, I., 2020. Tema, (54), 1-8.
Chumak, V.I., 1961: In: Voprosy fiziologii i patologii tsentral'noi nervnoi sistemy cheloveka i zhivotnykli v ontogeneze. Sbornik, Moskva, 63-68.
Close, B., Banister, K., Baumans, V., Bernoth, E. M., Bromage, N., Bunyan, J., Erhardt, W.E., Flecknell, P.,
Gregory, N., Hackbarth, H., Morton, D., Warwick, C., 1997. Laboratory animals, 31(1), 1-32.
Deutscher Bundestag, 2017. Wissenschaftliche Dienste, Sachstand WD 8 - 3000 - 030/17.
Gassmann-Langmoen, A.-B., Schatzmann, U., 1990. Stiftung Forschung 3R, CH-3110 Münsingen.
Göhler, D., Fischer, B., Meissner, S., 2017. Poult.Sci., (96), 1-4.
Heatley, J.J., 2008. In: BSAVA Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds. Chitty, J., M. Lierz, BSAVA Publishing, Gloucester, UK, 97-113.
Hirt, H., 2004. In: Situationsanalyse Schweiz 2004. Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL).
Jaksch, W., 1981. International Journal for the Study of Animal Problems, 2(4), 203-213.
Leenstra, F., Munnichs, G., Beekman, V., Van Den Heuvel-Vromans, E., Aramyan, L., Woelders, H., 2011. Animal Welfare, 20(1), 37-45.
Lierz, M., Korbel, R., 2012. Journal of Exotic Pet Medicine, (21), 44-58.
Lourens, A., Gerritzen, M.A., 2009. Animal Sciences Group van Wageningen UR, Lelystad.
Mckeegan, D. E. F., Sandercock, D. A., Gerritzen, M. A., 2013. Poult.Sci., 92(4), 858-868.
Mellor, D.J., Diesch, T.J., 2007. New Zealand Vet.J., 55(2), 51-60.
Preisinger, R., 2020. Schweizer Geflügelzeitung, 8/2020, 14-17.
Prinz, S., Coenen, A., Ehinger, F., Van Oijen, G., Bessei, W., 2012. Arch.Geflügelk., 76(1), 63-71.
Reimers, U., 2008. Tierärztliche Hochschule, Hannover.
Retter, K., 2014. Tierärztliche Hochschule, Hannover.
Richard, L., 2020. DGS-Magazin, 31/2020, 14-19.
Schatzmann, U., 1997. In: Das Buch vom Tierschutz. Sambraus, H.H., Steiger, A. (éditeur) Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 686-704.
Schilling, M. W., Radhakrishnan, V., Vizzier-Thaxton, Y., Christensen, K., Joseph, P., Williams, J. B., Schmidt, T. B., 2012. Poult.Sci., 91(12), 3214-3222.
Vizzier-Thaxton, Y., Christensen, K. D., Schilling, M. W., Buhr, R. J., Thaxton, J. P., 2010. J.Appl.Poult.Res., 19(4), 341-348.
Von Wenzlawowicz, M., 2021. Available at: https://www.agri-at.com/images/flyer/Investigation_Report_BSI_Stunning_Chicken_Embryos.pdf
Zumbrink, L., Brenig, B., Foerster, A., Hurlin, J., Von Wenzlawowicz, M., 2020. Europ Poult Sci, (84), 1-11.

Tableau 1. Paramètres de localisation et mesures de la variation du rythme cardiaque, de la température de la coquille et du courant dans la série d'essais 1

		Battement de cœur BPM	Température de l'œuf °C	Intensité du courant A
N		299	299	286
Moyenne		205	32.2	3.82
Médiane		204	32.5	3.83
Standard deviation		44	1.70	.716
Variance		1926	2.88	.512
Minimum		74	25.0	.65
Maximum		297	35.5	5.65
Percentiles	25	176	31.0	3.45
	50	204	32.5	3.83
	75	242	33.5	4.29

Tableau 2. Fréquences des mouvements survenus dans les groupes expérimentaux lors de l'essai 1

	N (%)	Ouverture du bec	Mouvement de la tête	Mouvement des ailes	Mouvement des doigts / pattes	Réaction à une stimulation mécanique
Anesthésié	283 (99.3)	4	22	6	7	5
Non-anesthésié	2 (0.7)	1	1	2	2	1
Témoin	13 (100)	10	12	12	12	12

Tableau 3. Distribution de la fréquence absolue et relative des résultats de l'anesthésie dans l'essai 2

	Absolue	Relative (%)	Cumulée (%)
Sans mouvement /anesthésié	47	95.9	95.9
Avec mouvement /anesthésié	1	2.0	97.9
Avec mouvement /non-anesthésié	1	2.0	100.0

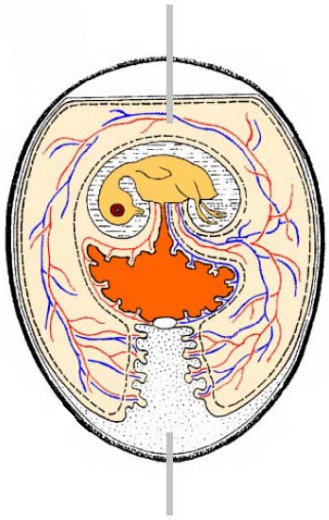


Figure 1. Schéma de la perforation électrique (modifié d'après Kalweit et Burmeister, 1995).

L'ECLOSION A LA FERME EST ELLE POSSIBLE DANS LES BATIMENTS EQUIPES DE RADIANTS ?

Guyot Yann[1], Ravon Laure[2], Laval Gaëtan[1], Collin Anne[3], Guilloteau Laurence A.[3], Redo Aurélien[4], De Louw Franck[5], Maze Bernard[1], Souchet Christophe[1], Rousseau Philippe[2], Germain Karine[2], Quentin Maxime[1], Travel Angélique[1]

[1]ITAVI, 7, rue du Faubourg Poissonni`ere, 75009 PARIS, France
[2]INRAE - UE EASM 1206, Station du Magneraud, 17700 SAINT PIERRE D'AMILLY, France
[3]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France
[4]Systel, 4, rue de l'essart Rocher, 44140 LE BIGNON, France
[5]One2Born, d'n Office, Loopkantstraat 25, 5405 AC UDEN, Pays-Bas,
travel@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

L'éclosion des poussins à la ferme est en plein développement dans de nombreux pays européens. Le principal défi de cette pratique réside dans le fait de conserver pendant 3 jours une température de coquille homogène de 36°C. Un grand nombre de bâtiments reste aujourd'hui équipé de radiants, fournissant un chauffage localisé et spatialement hétérogène. L'objectif de cet essai était d'étudier la faisabilité de faire éclore des poussins de type Label et Standard dans un bâtiment équipé de radiants. Des essais préalables réalisés sur des œufs de consommation enrichis de modélisations thermiques ont permis de déterminer les conditions optimales d'utilisation du radiant pour l'éclosion à la ferme. 250 œufs Ross 308 et 250 œufs de Label ont été mis en incubation simultanément au couvoir. A 18 jours de développement embryonnaire, 150 œufs fertiles de chaque lignée ont été installés dans 3 alvéoles conçues pour ce type d'éclosion, puis disposées sur la litière et sous un radiant. Les œufs restants ont été placés en éclosoir (témoin). La température de surface des œufs est équivalente entre les 2 lignées (en moyenne 35,7°C). Les résultats démontrent un très bon taux d'éclosion : 99,3% vs 98,8% (Labels) et 98,7% et 98,9% (Ross) respectivement au sol et au couvoir. De plus le poids des poussins éclos en bâtiment (41,2g) est significativement supérieur à ceux éclos en éclosoir (39,7g), indépendamment de la souche, et un très bon score de qualité de poussins a été observé (101/110). Il est donc possible d'utiliser des radiants pour l'éclosion en élevage, avec des taux d'éclosion comparable à ceux mesurés en éclosoir, pour des poulets à croissance rapide et lente. Néanmoins, une évaluation des effets à long terme de cette nouvelle pratique d'élevage reste à réaliser.

ABSTRACT

On-farm hatching is it possible in buildings equipped with radiant heats?

On-farm chicks hatching is significantly growing in many european growing. The main challenge of this practice is to maintain a homogenous eggshell temperature of 36°C over th last 3 days before hatching. Nowadays, a large number of broiler houses is equiped with radiant heating systems, allowing a localised and spatially heterogenous heating pattern. The main goal of this study was to evalaluate the feasibility of chicks hatching (slow and fast growing broiler) in barns equiped with radiant heating system. Liminar trials conducted on eggs for consumption with thermal modeling support have allowed to determine optimal conditions for hatching under radiant. To get started, 250 eggs for fast and 250 eggs for slow growing broiler have simultaneously been placed in hatchery. At 18 days of embryon developpement, 150 fertilized eggs of each strain have been set on hatching cells and placed on litter under radiant. Leftover eggs have been placed in hatching device (control). Eggshell temperature was similar for both strains (35.7°C on average). Results indicate a very good hayching rate : 99,3% vs 98,8% (slow growing broiler) et 98,7% et 98,9% (fast growing broiler) for one-farm and in hatching respectively. Moreover, chicks body weight (41.2g) was significantly higher in on-farm group than those hatched in device (39.7g), independantly of the strain, and a good chick quality score has been observed (101/110). This results show the possibility of on-farm hatching with radiant heating systems, with similar rates than hatching device, for fast and slow growing broiler. However, long term effects of this new hatching practice have to be assessed.

INTRODUCTION

Faire éclore des poussins directement en élevage est un concept plus respectueux du bien-être animal qui se développe dans les pays d'Europe. Le principe est de transporter les œufs 3j avant éclosion, ainsi les poussins naissent à l'élevage, sans intervention humaine et dès leur éclosion ils ont accès à l'eau et l'aliment. Les systèmes d'éclosion à la ferme actuellement disponibles sur le terrain diffèrent en termes d'agencement des équipements et du degré d'automatisation (Van Meirhaehhe, 2021 ; de Jong et al., 2019).

En couvoir, l'éclosion des poussins de type chair commencent vers 19 jours d'incubation. Le temps séparant le premier et le dernier poussin éclos (fenêtre d'éclosion) peut varier entre 24 et 36 h (Careghi et al., 2005 ; van de Ven et al., 2009). En pratique dans les couvoirs, tous les poussins restent dans l'éclosoir, dans une ambiance sombre et bruyante, au moins jusqu'à 510 h d'incubation, avant d'être sortis, parfois sexés, puis triés, vaccinés et transportés vers l'élevage. En considérant cette suite d'étapes, certains poussins peuvent attendre jusqu'à plus de 72 h avant de pouvoir s'abreuver et s'alimenter (Willemsen et al., 2010). Des études antérieures ont montré qu'une privation d'eau et d'aliments de plus de 36 heures après l'éclosion peut nuire au développement des organes (de Jong et al., 2017), notamment au développement intestinal (Lamot et al., 2014), au développement immunitaire (Panda et al., 2015) et à la capacité de thermorégulation et de réponse au stress (Willemsen et al., 2010 ; Hollemans et al., 2018).

Les avantages de l'éclosion à la ferme, sont clairement démontrés. Seulement, ces études concernent quasi exclusivement les souches de poulets à croissance rapide. L'éclosion à la ferme pourrait néanmoins intéresser les productions plein air, Label ou Biologique, pour lesquelles, la prise en compte du bien-être animal est également une priorité.

Le principal défi de la pratique de l'éclosion à la ferme réside dans le fait de maintenir pendant 3 jours, une température de surface de coquille homogène de 36°C sur tous les œufs. Un chauffage en ambiance répond relativement bien à ce besoin. Cependant, un grand nombre de bâtiments reste aujourd'hui équipé de radiants, fournissant un chauffage localisé et spatialement hétérogène. Ce qui est problématique quand on sait qu'une température trop basse ou trop élevée peut avoir un effet fatal sur l'embryon.

L'objectif de l'étude était d'étudier la faisabilité de faire éclore des poussins de type croissance rapide et croissance lente dans un bâtiment équipé de radiants.

Une première étape a permis de définir la configuration optimale de radiant pour obtenir la plus grande surface possible au sol couverte par la plage de températures cibles. La seconde étape a permis d'évaluer l'effet du lieu d'éclosion et de la souche sur le taux et la cinétique d'éclosion, la qualité et le poids des poussins. L'intérêt de la présence d'eau avec ou sans d'aliment a également été examiné pour les poussins éclos en bâtiment.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Test de configuration des radiants

4 séries de test ont été réalisées pendant 12h, successivement dans la même salle (pré-chauffée 48h et ventilée) (EASM, INRAE, Saint Pierre d'Amilly). Pour chaque série, 2 radiants de 5kW (Sol'Air de Systel) étaient placés à 2,2 m du sol et espacés de 2,5 m l'un de l'autre. Au sol, sur une litière paille, des œufs de consommation étaient positionnés sur des alvéoles, en croix sous les radiants (Figure 1). 25 thermo-boutons posés à la surface des œufs et espacés régulièrement de 50 cm ont enregistré la température ambiante, toutes les 10 sec pendant 12 heures, pour chaque série. Les capteurs étaient placés de manière à obtenir une cartographie des gradients de température au sol.



Figure 1. Photographie du dispositif d'essai

Les critères qui différaient entre les séries étaient : le placement de la sonde de régulation des radiants (placée sur les œufs), la température de consigne et la plage de chauffage (Tableau 1). Afin d'extrapoler une cartographie complète de la température de l'air au niveau des œufs, à partir de nos mesures de température, un ajustement mathématique a été réalisé. La fonction suivante a été sélectionnée comme celle permettant un meilleur ajustement des données :

$$T_{air_sol}(x,y) = \frac{a}{b(x^2+y^2)+h}$$

Avec *a* et *b*, les paramètres à estimer et *h* la hauteur du radiant. Enfin, à l'aide de cet ajustement, la projection au sol de la zone de températures de l'air comprises entre 32 et 34.5 °C (besoin thermique des embryons) est représentée (Figure 3b). La magnitude de fluctuation est calculée comme la moyenne des écarts types observés dans le temps pour tous les capteurs.

1.2. Test d'éclosion avec les souches croissance rapide et croissance lente

1.2.1. Œufs à couver et modalités d'éclosion

Pour chaque souche, les œufs à couver (OAC) mis à éclore au couvoir ou en bâtiment, étaient pondus le même jour par le même troupeau de reproducteurs et stockés dans les mêmes conditions. Les conditions pré-incubation étaient proches pour les OAC des deux souches : i) réception de 250 OAC de Ross 308, issus de reproductrices âgées de 36 semaines et stockés 10j et ii) réception de 250 OAC de Hubbard JA657,

pondus par des reproductrices âgées de 31 semaines et stockés 8j. Tous les œufs ont été stockés au même endroit, dans les mêmes conditions et ils ont tous été mis en incubation en même temps dans le même incubateur. Tous les œufs ont été identifiés et pesés individuellement et les OAC déformés, fêlés ou sales ont été retirés avant mise en incubation. Deux mirages ont eu lieu à I7 et I18 pour retirer les œufs clairs et les embryons morts. A I18, pour chaque souche, 150 œufs ont été placés sur 3 alvéoles (One2born, 2021) et affectés au groupe éclosion à la ferme et le reste des œufs était affecté au groupe éclosion au couvoir. Les œufs ont été répartis de manière à avoir des poids moyens et écartypes équivalents entre les plateaux One2born et ceux du couvoir, intra-souche.

Les œufs du groupe éclosion à la ferme ont été placés dans un parquet circulaire (Figure 4b) divisé en 4 sections : 1/ 50 OAC de Ross 308 recevant uniquement de l'eau *ad libitum* 2/ 100 OAC de Ross 308 recevant de l'eau + de l'aliment *ad libitum* 3/ 50 OAC de JA657 recevant uniquement de l'eau *ad libitum* 2/ 100 OAC de JA657 recevant de l'eau + de l'aliment *ad libitum*. L'air entrant était pré-chauffé (20°C) pour limiter les retombées d'air froid, notamment la nuit. Le radiant était installé à 2,2 m de hauteur, la sonde posée sur les œufs, en milieu d'alvéole, à environ 55 cm de l'aplomb avec une consigne de 35°C et une plage de 1°C (mise en chauffe 48h avant installation des œufs). Aucun dispositif n'a permis de modifier l'hygrométrie de l'air. La ventilation était thermorégulée et la lumière était allumée en continu (50 lux) dès l'installation des OAC dans le bâtiment. Les œufs du groupe couvoir étaient placés dans les paniers d'éclosion, selon la procédure standard.

1.2.2. Mesures et observations

Avant éclosion, la température de l'air était enregistrée en continue à l'aide de thermo-boutons posés sur les œufs et la température de surface des coquilles de 6 OAC/alvéole (2 en position proche, intermédiaire et éloignée de l'aplomb du radiant) était mesurée 3 fois par jour, avec un thermomètre de contact infra-rouge.

A environ 519h d'incubation, tous les poussins ont été pesés individuellement et leur qualité a été notée. Il s'agit d'une évaluation visuelle de l'état physique et d'activité du poussin, selon une grille de notation adaptée de la grille de Tona (2003). Douze indicateurs ont été notés puis sommés pour obtenir un score total de qualité sur 110 points. Pour les œufs non éclos, leur nombre et emplacement ont été notés et ils ont été cassés pour déterminer les causes de mortalité. Le suivi des animaux ne s'est pas poursuivi au-delà de l'éclosion.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Tests de configuration des radiants

Les modalités d'essai de chaque série, les surfaces de température ambiante optimale (32-34,5°C, en vert dans la figure 3b) et zone dans laquelle la température ambiante a fluctué de ± 0,5°C (en jaune dans la figure 3b) par rapport aux valeurs optimales sont présentés dans le tableau 1, ci-dessous :

Série	1	2	3	4
Hauteur radiant (m)	2,2	2,2	2,2	2,2
Température de consigne (°C)	34	34	34	34
Distance sonde de l'aplomb (cm)	45	45	65	65
Plage de chauffage (°C)	0,4	1	0,4	1
Surface de température optimale (m²)	7,48	8,60	8,23	9,00
Surface de température variable (m²)	2,38	2,76	3,86	2,78

La configuration optimale des radiants qui a permis le compromis d'obtenir une grande surface au sol de température optimale, sans avoir une trop grande zone de surchauffe à l'aplomb (surconsommation de chauffage et difficulté de placement des œufs) est un radiant placé à 2,2m de hauteur, une sonde placée à 45 cm de l'aplomb avec une plage de chauffage de 1°C. Une représentation de la distribution des températures au sol est illustrée en figures 3.

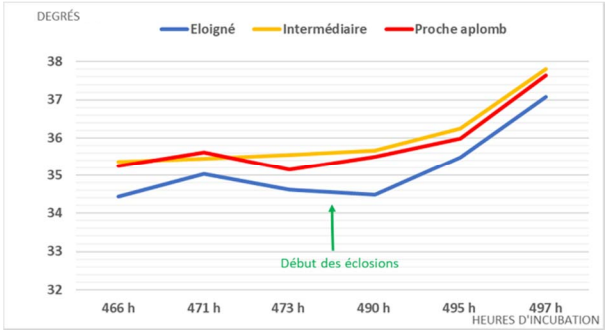
2.2. Test d'éclosion

Pour chaque souche, 2 OAC/250 ont été éliminés avant mise en incubation (MEI), ils étaient fêlés, sales ou déformés. En cours d'incubation, 12 autres OAC ont été retirés pour les JA657 (4 clairs et 8 morts) et 5 autres OAC ont été retirés pour les Ross 308 (3 clairs et 1 mort). A I18, 150 OAC de JA657 et 150 OAC de Ross 308 ont été placés dans la salle d'élevage sous le radiant et 86 OAC de JA657 et 94 OAC de Ross 308 ont été placés en éclosoir.

2.2.1. Température de surface des œufs

La température de surface des œufs était équivalente entre les 2 souches quel que soit le moment de la mesure (en moyenne 35,72°C pour les JA657 et 35,76°C pour les Ross 308 ; p>0,05). En revanche, on note que les œufs les plus éloignés de l'aplomb sont significativement plus froids que les œufs situés à proximité ou en zone intermédiaire (35,29 vs 35,96°C – p=0,0062 ; Figure 2). Indépendamment de la souche et de l'emplacement des œufs sur les alvéoles, la température de surface des œufs augmente juste avant l'éclosion.

Figure 2. Température de surface des OAC (°C) en fonction du nombre d'heures d'incubation



2.2.2. Performances d'éclosion

Le taux d'éclosion des embryons viables à I18 était très élevé et équivalent entre les souches et entre les lieux

d'éclosion ; pour les JA657, 99,3 vs 98,8% et pour les Ross 98,7% vs 98,9% respectivement en élevage et au couvoir. L'éclosion des Ross 308 a débuté avant celle des JA657 (479h post incubation (PI) vs 482j PI) et a été plus rapide. Le fenêtre d'éclosion des Ross 308 était de 29h alors que celle des JA657 était de 35,5h (Figure 4c), seulement les 80% d'éclosion sont atteints presque au même moment (501h PI pour les Ross 308 et 502h PI pour les JA657). Les éclosions sont homogènes sur toutes les alvéoles, ce qui signifie que la température produite par le radiant a permis d'achever le développement embryonnaire dans de bonnes conditions. La casse des œufs non éclos a révélé des poussins non viables avec un vitellus externe.

2.2.3. Poids des œufs et des poussins

Comme attendu, nos résultats ont montré que les poids des œufs et des poussins étaient supérieurs chez les Ross 308 (59,4g vs 56,0g) que chez les JA657 (42,8g vs 38,4g respectivement pour les Ross et les JA657). Le poids des poussins éclos en bâtiment est significativement supérieur à ceux éclos en éclosoir, indépendamment de la souche (Figure 5a). Ce résultat s'explique par le fait que les poussins éclos en bâtiment ont un accès immédiat à l'eau (et l'aliment) comme le suggèrent plusieurs auteurs (Gonzales et al., 2003 ; Van de Ven et al., 2009 ; van de Ven et al., 2011 ; de Jong et al., 2019), mais aussi par la déshydratation possible des poussins qui attendent dans l'éclosoir (Fairchild et al., 2006). L'écart de poids individuel entre les poussins éclos en bâtiment et ceux éclos au couvoir est plus marqué chez les Ross 308 (+1,9g) que chez les JA657 (+1,1g). Ce résultat peut s'expliquer par une consommation d'aliment plus importante chez les Ross 308. En effet, les poussins Ross ayant accès à l'eau et l'aliment dès leur naissance ont un poids vif individuel significativement supérieur de 2g, alors que pour les JA657, le poids est identique, que les poussins aient accès à de l'aliment solide (38,9g) ou non (38,7g - Figure 5b). Plusieurs hypothèses complémentaires peuvent être émises : les poussins Ross 308 étant nés plus tôt que les JA657, ils ont eu plus de temps pour consommer de l'aliment ; les Ross 308 ont des besoins énergétiques supérieurs qu'ils ont satisfait en consommant une plus grande quantité d'aliment stimulant ainsi très rapidement leur métabolisme et leur croissance. Un contrôle des jabots des poussins au moment de la pesée aurait permis de savoir s'ils avaient tous consommés de l'aliment.

2.2.4. Qualité des poussins

Le score global de qualité des poussins est très élevé (≈moyenne de 101/110) et est significativement plus élevé pour les JA657 (102,5) que pour les Ross 308 (100,9), principalement expliqué par leur meilleure note sur les indicateurs d'activité (posture, éveil). Pour les JA657, le score de qualité est équivalent entre les poussins éclos en couvoir ou élevage. En revanche, pour les Ross 308, les poussins éclos en bâtiment ont une meilleure apparence et ont moins de marque de déshydratation, ce qui induit un score de qualité de poussin (101,8) significativement meilleur que ceux éclos au couvoir (99,5). Indépendamment de la souche, la distribution d'aliment (102,4) permet d'avoir des poussins significativement plus actifs et donc avec un score global de qualité supérieur à la seule mise à disposition d'eau (100,7). Des études antérieures ont mis en évidence une diminution de la qualité des poussins éclos à la ferme car ils présentaient plus de problèmes au niveau du nombril et des tarses (de Jong et al., 2019). Notre étude n'a pas révélé de différence entre groupe pour la cicatrisation de l'ombilic, mais les notes de tarses étaient légèrement plus basses pour les poussins éclos à la ferme (4,3 vs 4,7), pour les 2 souches confondues. L'hypothèse évoquée est que le microclimat autour des œufs (température) est plus difficile à contrôler dans un environnement d'élevage qu'au couvoir (de Jong et al., 2019).

CONCLUSION

L'éclosion à la ferme est possible dans des bâtiments équipés de radiants. Il est important de rappeler que le bâtiment doit être étanche, avec un circuit d'air maitrisé (sans retombée d'air froid sur les œufs). Dans ces conditions, il est nécessaire de placer le radiant à une hauteur suffisante (2.2m) pour ne pas exposer les œufs à une température trop importante. De plus, la sonde de régulation doit être placée sur les alvéoles à environ 40 cm de l'aplomb et la plage de chauffage doit être de 1°C. Dans ces conditions, les taux d'éclosion observés au sol sont comparables à ceux de l'éclosoir, et ce pour des poulets de souches à croissance rapide et lente. L'accès précoce à l'aliment a induit un poids des poulets à croissance rapide supérieur et une qualité de poussins améliorée pour les deux souches. Ces premiers résultats sont intéressants, mais une évaluation des effets à long terme de cette nouvelle pratique d'élevage reste à réaliser.

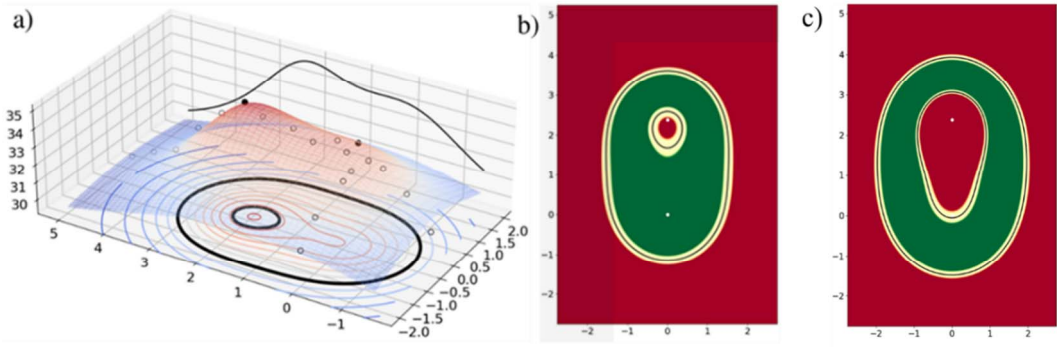
REMERCIEMENTS : Cette étude conduite dans le cadre du projet Carnot F2E Chickboom (2020/2022) et inscrite dans le programme de l'UMT BIRD

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

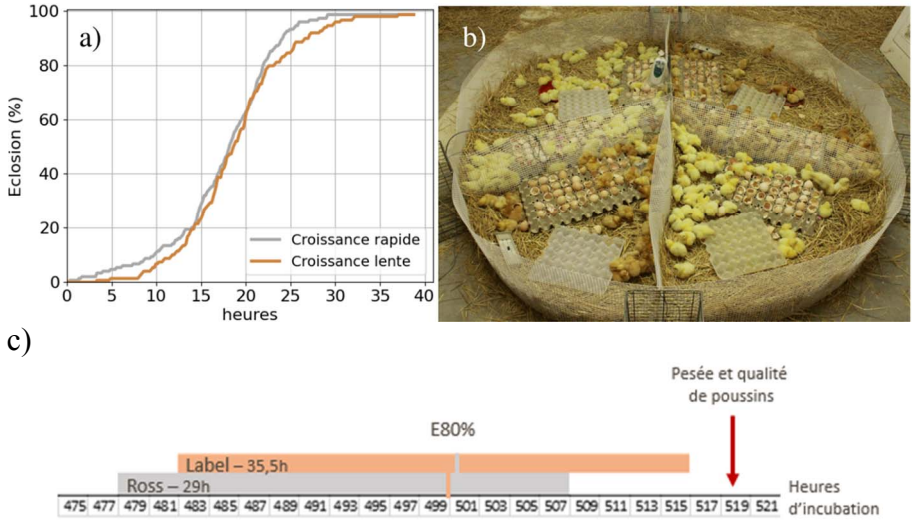
Careghi, C., K. Tona, O. Onagbesan, J. Buyse, E. Decuypere, and V. Bruggeman. 2005. Poult. Sci. 84:1314–1320.
de Jong I.C., Gunnink H., van Hattum T., van Riel J.W., Raaijmakers M. et al., 2019. Animal,13:6, 1269–1277.
de Jong, I.C., van Riel J.W., Bracke M.B.M., van den Brand H., 2017. Plos One 12:20.
Fairchild BD, Northcutt JK, Mauldin JM, Buhr RJ, Richardson LJ et al., 2006. J. Appl Poult Res. 15, 538–543.
Gonzales E, Kondo N, Saldanha E, Loddy MM, Careghi C and Decuypere E., 2003. Poult. Sci. 82, 1250–1256.
Hollemans, M.S., de Vries, S., Lammers, A., Clouard, C., 2018. Poult. Sci. 97, 2534–2542.
Lamot, D. M., I. B. van de Linde, R. Molenaar, C. W. van der Pol, P. J. et al., 2014. Poult. Sci. 93:2604–2 614.

One2Born, n.d., http://www.one2born.com/en/ (accesssed 31 January 2021).
Panda, A. K., S. K. Bhanja, and G. Shyam Sunder. 2015. Worlds Poult. Sci. J. 71:285–296.
Tona K, Bamelis F, De Ketelaere B, Bruggeman V, Moraes VM, Buyse J, et al., 2003. Poult Sci.;82(5):736-41.
van de Ven, L. J. F., A. V. Van Wagenberg, P. W. G. Groot Koerkamp, et al.,. 2009. Poult. Sci. 88:2273– 2279.
van den Brand, H., R. Molenaar, I. van der Star, and R. Meijerhof. 2010. Poult. Sci. 89:716–720.
Van Meirhaehhe H., 2021. Conférence Elo Santé Nutrition 2021, Edition du Boisbaudry, 10/12/21.
Willemsen, H., M. Debonne, Q. Swennen, N. Everaert, C. et al., 2010. World Poult. Sci. J. 66:177–188.

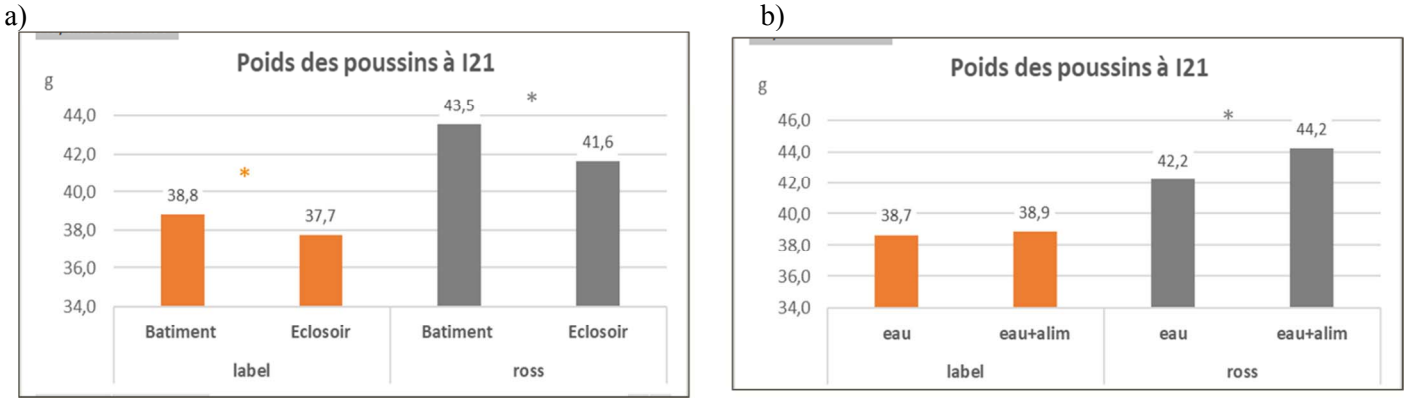
Figures 3. Modélisation des températures pour la série 2 : *a) Ajustement du modèle $T_{air_sol}(x, y)$ sur les observations, les points noirs pleins représentent l'emplacement des radiants. b) Projection au sol de la zone de confort (vert, 8.6 m²) et zone de température plus variable (jaune, 2.76 m²)* et pour la série 4 : c) *Projection au sol de la zone de confort (vert, 9,00 m²) et zone de température plus variable (jaune, 2.78 m²)*



Figures 4. a) Dynamiques d'éclosion pour chaque souche, le t_0 correspond à l'éclosion du premier poussin, b) Poussins éclos dans les parquets c) fenêtre d'éclosion pour chaque souche en fonction du nombre d'incubation (E80% représente le moment où 80% des poussins de chaque souche sont éclos)



Figures 5. Poids des poussins à l'éclosion, pour chaque souche, a) selon le lieu d'éclosion b) selon les modalités d'alimentation des poussins éclos en bâtiment



EFFET DES CONDITIONS PRE ET POST-INCUBATION ET D'UNE SUPPLEMENTATION NUTRITIONNELLE, SUR LES PERFORMANCES ET LE STATUT ANTIOXYDANT DES POULETS

[1]Travel Angélique, [2]Collin Anne, [1]Pampouille Eva, [2]Raynaud Emilie, [2]Cailleau-Audouin Estelle, [2]Crochet Sabine, [2]Couroussé Nathalie, [2]Bordeau Thierry, [1]Souchet Christophe, [1]Chezaud Maïlys, [3]Bernard Jérémy, [2]Tesseraud Sophie, [2]Berri Cécile, [2]Guilloteau Laurence A., [2]Le Bihan-Duval Elisabeth, [2]Métayer-Coustard Sonia

[1]ITAVI, L'Orfrasière, 37380 NOUZILLY, France
[2]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France
[3]INRAE, PEAT, 37380 NOUZILLY, France
travel@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

La qualité de l'œuf à couver et son environnement pré- et post-incubation/éclosion sont autant de facteurs qui influencent le développement de l'embryon, la qualité et les performances du poussin. Mieux connaitre l'impact de ces facteurs est essentiel pour détecter ou anticiper des troubles et pour mettre en place des leviers, permettant une bonne éclosion et un bon démarrage. L'objectif de l'étude était de qualifier l'impact de conditions pré- et post-incubation 'optimales' ou 'peu favorables', couplées ou non avec l'ajout d'un additif stimulant le démarrage, sur les critères de performance au couvoir, en élevage, à l'abattage et sur un indicateur du statut antioxydant des poulets. Trois groupes de 100 poussins ont été constitués. Le groupe «conditions optimales» était composé de poussins issus d'œufs de reproductrices de 35 semaines d'âge, stockés 5j avant incubation et mis en élevage 4H après éclosion ; le groupe «conditions peu favorables» de poussins issus d'œufs de reproductrices de 58 semaines d'âge, stockés 13j avant incubation et mis en élevage 24H après éclosion et le groupe «complément» de poussins issus du groupe «conditions peu favorables» pour lesquels un complément nutritionnel a été placé sur l'aliment le jour de la mise en élevage. Les œufs des poules âgées et stockés 13j sont plus lourds (+7g), perdent plus de poids au stockage (+0,024g/j) et leur taux de fertilité (-17pt) et taux d'éclosion (-26pt) sont plus bas que ceux du groupe « conditions optimales ». Le score visuel de qualité des poussins est plus faible à J0, 1 et 7 pour le groupe « conditions peu favorables ». En fin d'élevage (42j), le taux de mortalité, le poids vif, le poids et la couleur des filets sont équivalents entre les 3 groupes. A noter cependant que, tous groupes confondus, le nombre de mâles morts est 7 fois plus élevé que celui des femelles (14 *vs* 2). La capacité antioxydante du sang des poulets est réduite (J0, J7, J42) pour le groupe « conditions peu favorables » par rapport au groupe « condition optimales », mais restaurée à J42 par l'apport du complément nutritionnel.

ABSTRACT

Effect of pre and post-incubation conditions and feed nutritional, on performance and antioxidant status of broilers

Hatching egg quality and its pre- and post-incubation/hatching environment are factors that influence embryo development, quality and performance of chicks. A better knowledge of these factor impacts is essential to detect or anticipate disorders and to propose practices allowing a good hatching and start. The aim of the study was to evaluate the impact of 'optimal' or 'unfavourable' pre- and post-incubation conditions, coupled or not with a nutritional booster distributed at D1, on hatching, growth and slaughter performance and on an indicator of animal antioxidant status. Three groups of 100 chicks were compared. The "optimal conditions" group was composed of chicks from 35-week-old female breeders, stored for 5 days before incubation and reared 4 hours after hatching; the "unfavourable conditions" group was composed of chicks from 58-week-old female breeders, stored for 13 days before incubation and reared 24 hours after hatching; and the third "supplement" group was composed of chicks from the "unfavourable conditions" group, for which a nutritional booster was added on feed at D1. The eggs of old hens stored for 13 days were heavier (+7g), but lost more weight during storage (+0.024g/d), and had lower fertility (-17pt) and hatching rates (-26pt) than those of the "optimal conditions" group. The visual quality score of chicks was lower at D0, 1 and 7 for the "poor conditions" group. At the end of rearing (42 days), the mortality rate, live weight, weight and colour of the breast were equivalent between the 3 groups. It is worthy to note that for all groups combined, the number of dead males was 7 times higher than that of females (14 vs. 2). Blood measurements of metabolic parameters showed that antioxidant capacity (D0, D7, D42) of chickens was reduced for the "unfavourable conditions" compared to the "optimal conditions" group, but restored at D42 by the nutritional supplement.

INTRODUCTION

La lutte contre l'antibiorésistance est un enjeu de santé publique. Le 1er plan EcoAntibio a permis une baisse de l'exposition des animaux aux antibiotiques de 37% sur la période 2012-2016 (Buzyn, 2017). Les efforts se sont poursuivis et la filière poulet de chair affiche un recul de 32 % de l'usage d'antibiotiques entre 2018 et 2020 (Puybasset, 2021). Ces résultats témoignent de la mobilisation et de l'engagement de l'ensemble des parties prenantes. La phase de démarrage est une période délicate pour des poussins immatures développant leurs capacités digestives et immunitaires pendant ces premiers jours (Bigot et al., 2003). Ils sont plus sensibles, c'est ce qui explique que les traitements antibiotiques et la mortalité sont plus élevés à cette période (Chauvin et al, 2005 ; Heier et al, 2002). Les éleveurs ont donc porté leurs efforts sur la biosécurité, la qualité de l'eau, l'ambiance, la prophylaxie, la gestion des transitions alimentaires… (Durot et Rufflé, 2015 ; Puybasset, 2021). Mais d'autres facteurs plus en amont influencent la qualité, la viabilité et le développement des poussins, tels que l'âge des reproducteurs, le temps et conditions de stockage des œufs à couver (OAC), les conditions d'incubation et de transport des poussins (Bergoug et al., 2013, Nasri et al., 2020, Narinc et Aydemir, 2021). Mieux connaitre ces impacts est essentiel pour détecter ou anticiper des troubles et pour mettre en place des leviers, permettant une bonne éclosion et un bon démarrage. L'objectif de l'étude était donc de qualifier l'impact de conditions pré- et post-incubation 'optimales' ou 'peu favorables', couplées ou non dans ce dernier cas avec l'ajout d'un additif alimentaire, sur les critères de performance au couvoir, en élevage, à l'abattage et sur un indicateur du statut antioxydant des poulets.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Les œufs à couver et les animaux

Dans cet essai, des mesures ont été réalisées sur les œufs à couver (OAC) et sur les poussins depuis l'éclosion jusqu'à 42j d'âge. Les OAC ont été collectés sur le terrain dans 2 élevages de poules reproductrices, âgées respectivement de 35 et 58 semaines. L'incubation des OAC et l'élevage des animaux ont été effectués au Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (PEAT, INRAE Nouzilly). Le temps de stockage des OAC était plus ou moins long selon le groupe, mais tous les œufs étaient stockés dans les mêmes conditions d'ambiance et ont tous été installés en même temps, dans le même incubateur. A l'éclosion, 3 groupes de 100 poussins Ross 308 (50% mâles et 50% femelles) ont été constitués comme suit :

- le groupe « conditions optimales » (OpC) était composé de poussins issus d'œufs de reproductrices de 35 semaines d'âge, stockés 5j avant incubation et mis en élevage 4H après éclosion ;

- le groupe « conditions peu favorables » (NOpC) était composé de poussins issus d'œufs de reproductrices de 58 semaines d'âge, stockés 13j avant incubation. Les animaux ont subi des conditions de démarrage perturbées avec 30 minutes de transport le jour de l'éclosion (J0) et le lendemain (J1), une attente en boites de transport placées à 25°C pendant 24h, puis une mise en place et un accès à l'aliment le lendemain de l'éclosion (J1).

- le 3e groupe « conditions peu favorables + complément nutritionnel » (NOpC+) était composé de poussins issus du groupe « conditions peu favorables » pour lesquels un complément nutritionnel a été distribué le jour de la mise en élevage.

1.2. Complément alimentaire

Il s'agit d'un complémentaire alimentaire commercial (Chickboost), utilisé sur le terrain pour hydrater les poussins et stimuler leur démarrage. Il est composé d'un cocktail de protéines très digestibles, de glucides, de lipides, d'acide organique, d'oligo-éléments, d'électrolytes et de phosphate. Il se présente sous forme de petits granulés de couleur rouge à réhydrater, ayant une odeur attractive pour les poussins. Le jour de la mise en place 5g/poussin de complément ont été distribués sur l'aliment, qui avait été préalablement posé au sol sur des papiers.

1.3. Mesures sur les œufs et les animaux

Le lendemain de la ponte, les 250 OAC de chaque groupe ont été identifiés et pesés individuellement. A l'issue de la période de stockage, avant mise en incubation (MEI), une nouvelle pesée de tous les œufs a été réalisée. Le jour de la mise en incubation (I0), 30 OAC de chaque groupe ont été prélevés pour déterminer les caractéristiques physiques des œufs (poids, longueur et largeur), de la coquille (couleur, présence de fêlures, résistance à la rupture et épaisseur) et la qualité interne de l'œuf (pH, poids du blanc et du jaune, hauteur du blanc, couleur du jaune).

La fertilité réelle, la mortalité embryonnaire précoce (I7) et tardive (I14) ainsi que le nombre de poussins éclos ont été enregistrés. L'éclosion a été calculée par rapport au nombre d'œufs mis en incubation.

Les poussins ont été sexés à la sortie de l'éclosoir (souche autosexable). A J0, J1 et J7, la qualité de tous les poussins a été évaluée visuellement selon une grille de notation adaptée de la grille de Tona et al. (2003). A chaque âge, 12 indicateurs ont été notés, en lien avec l'état général et l'activité, la présence de blessures, de traces de déshydratation ou d'inflammation, le niveau de résorption du vitellus et de cicatrisation de la zone ombilicale, puis ils ont été sommés pour obtenir un score total de qualité sur 110 points. La température corporelle des poussins a été mesurée au cloaque à J0 et J1.

Cent poussins de chaque groupe ont été mis en élevage (50 mâles et 50 femelles). Les morts étaient notés quotidiennement. Les poids à J0, J1, J7, et J13 ont été enregistrés, permettant également de calculer la perte de poids entre J0 et J1. Des dosages plasmatiques ont été réalisés à J0, J7 et J42 pour évaluer le statut antioxydant des animaux (capacité antioxydante totale : TAS avec kit Randox). A l'issue de la période d'élevage, le poids à

l'abattage (J42), le poids de filet et de gras abdominal ainsi que la couleur et le pH ultime de la viande ont été mesurés.

1.4. Analyses statistiques

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes ± SEM. Les données relatives à la mortalité, aux indicateurs individuels de qualité de poussin ont été analysées au moyen de tests de Chi2. Les caractéristiques des œufs, le score total de qualité des poussins, leur poids et températures corporelles, le TAS ainsi que les données d'abattage ont été soumis à une analyse de variance (logiciel Statview®, version 5, SAS Institute, Cary, NC, USA) afin de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les groupes.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Caractéristiques des OAC

La caractérisation des œufs a permis de mettre en évidence des différences notables entre les deux groupes OpC et NOpC (Tableau 1). Les œufs de poules âgées (+23 semaines/OpC) étaient significativement plus lourds (+12,1%) le lendemain de la ponte. La perte de poids d'œuf au cours du stockage (exprimée en g/j de stockage pour permettre la comparaison entre les 2 conditions) et au cours de l'incubation étaient significativement plus élevées pour le groupe « conditions peu favorables » (NOpC). Toutefois, rapportée au poids de l'œuf à la MEI (I0), la perte de poids au cours de l'incubation est significativement plus faible pour le groupe NOpC. Chez les OAC issus de poules âgées, la part d'albumen et sa hauteur (unité Haugh) sont significativement plus faibles alors que la part de vitellus et de coquille sont plus élevées. La quantité et l'épaisseur de coquille, supérieures chez les poules âgées, a sans doute permis de maintenir une résistance de coquille équivalente entre les 2 groupes, bien que leurs œufs soient plus gros. Les pH du vitellus et de l'albumen étaient significativement plus élevés pour les OAC de mères âgées de 58 sem. et stockés 13j (6,04 *vs* 5,96 pour le vitellus et 9,37 *vs* 9,21 pour l'albumen ; p=0,001). L'évolution du poids des œufs au cours du stockage et de l'incubation ainsi que les écarts de pH laissent supposer des capacités d'échanges gazeux différents entre les OAC des 2 groupes. Les différences de composition de l'œuf observées sont susceptibles d'affecter les performances de reproduction et les phénotypes des poussins. Ainsi, les œufs du groupe OpC présentent un plus petit vitellus qui contient les lipides, les protéines, vitamines, minéraux, oligoéléments qui sont absorbés les 10 premiers jours de l'embryogénèse, mais disposent dans le même temps d'une plus grande quantité d'albumen et donc potentiellement de plus de nutriments de nature protéique à assimiler pendant la phase de croissance de l'embryon (I11 à I21).

2.2. Fertilité et mortalité embryonnaire

Le stockage long d'OAC issus de reproductrices âgées a impacté négativement et significativement la fertilité et la viabilité des embryons (Tableau 2). Le taux d'éclosion (calculé sur le nombre d'OAC MEI) était de 66,7% pour le groupe NOpC contre 93,2% pour le groupe OpC (+26,5pt). Au cours de l'incubation, la mortalité embryonnaire présente deux pics principaux, Pour les deux groupes, la mortalité embryonnaire précoce était la plus élevée et était beaucoup plus marquée pour le groupe NOpC (13,6%) que pour le groupe OpC (2,8%).

2.3. Qualité de poussins et la température corporelle

La figure 1 montre que les conditions pré- et post-incubation ont impacté significativement la qualité des poussins, le score total étant moins élevé chez les poussins NOpC que les OpC sur toute la première semaine de vie. A J0, les poussins OpC étaient plus actifs et avaient des ombilics mieux cicatrisés. Pour les deux groupes le score de qualité diminuait entre J0 et J1 : pour les NOpC (-3pt) ceci s'explique probablement par l'attente en boite de transport sans eau ni aliment pendant 24h conduisant à des poussins moins actifs, déshydratés et aux tarses rougis. Pour les OpC (-5pt), les poussins ayant eu accès à l'aliment depuis presque 24h, leur plus faible activité pourrait être expliquée par le repos post-prandial et la moins bonne cicatrisation de leur ombilic par rapport à la veille par la dilatation abdominale suite à la consommation d'aliment. Entre J1 et J7, le score total de qualité augmente pour tous les groupes (+13pt pour les OpC et +10pt pour les NOpC). Il n'y a pas eu d'effet du complément nutritionnel sur le score de qualité à J7, néanmoins on observe une meilleure homogénéité du score pour le groupe NOpC+ comparativement au groupe NOpC (Figure 1). Notons qu'au sein de chaque groupe, les notes de qualité à J0 et J7 étaient équivalentes entre sexe. On observe à J1, une différence de qualité entre OpC et NOpC plus marquée chez les mâles (5,5pt) que chez les femelles (0,9pt), la déshydratation (veine saphène saillante) à J1 étant beaucoup plus marquée chez les mâles NOpC que chez les femelles du même groupe. La température corporelle des poussins augmente de 0,8°C entre J0 et J1, indépendamment du groupe et du sexe. A J0, les poussins du groupe OpC ont une température corporelle supérieures au groupe NOpC (39,2 °C vs 39°C, p<0,001), la différence disparaissant à J1. A J0 et J1, indépendamment de l'effet groupe, la température corporelle des femelles est supérieure (+0,3°C) à celle des mâles.

2.4. Performances de croissance et d'abattage

Une faible mortalité a été observée tout au long de l'essai (au total 16 poulets dont 6 OpC, 6 NOpC et 4 NOpC+). S'il n'a pas été possible de mettre en évidence de différences entre groupes, néanmoins, la mortalité était beaucoup plus élevée chez les mâles (14 mâles vs 2 femelles ; p X^2 < 0,0008). En cohérence avec des œufs plus légers, les poussins OpC avaient un poids plus réduit à l'éclosion (-5g ; p<0,0001). En revanche, l'accès à l'aliment 24H avant les poussins NOpC et NOpC+, leur a permis d'afficher une croissance supérieure jusqu'à J13 (Tableau 3). Les différences entre groupes n'étaient plus visibles à J42, mais à cet âge, le poids des mâles est très nettement supérieur à celui des femelles (+420g ; p<0,0001). Quel que soit l'âge, aucun effet statistique du

complément nutritionnel n'a été mis en évidence sur les performances de croissance. Les filets issus du groupe OpC étaient plus acides (-0,04pt de pHu ; p=0,02) et avaient tendance à être plus légers que ceux des 2 autres groupes (Tableau 4). Le complément nutritionnel n'a pas eu d'effet sur les données d'abattage. A noter, que les mâles avaient des filets plus colorés et plus lourds que les femelles (Tableau 4).

2.5. Statut antioxydant des animaux

Les résultats d'analyse d'un indicateur de la balance d'oxydo-réduction montrent qu'à J0, J7 (non significatif) et J42, les animaux du groupe NOpC ont une capacité antioxydante plasmatique globale plus faible par rapport aux poulets du groupe OpC (Figure 2). L'ajout du complément nutritionnel à J1 a permis de restaurer durablement la capacité antioxydante globale des poulets du groupe « conditions peu favorables ». En effet à J42, la valeur de TAS du groupe NOpC+ est significativement supérieure au groupe NOpC et équivalente au groupe OpC. Le complément nutritionnel aide au maintien du statut redox, il est utilisé par l'organisme lors de stress aigus ou cumulatifs pour lui permettre de revenir à l'état d'équilibre, et ainsi limiter l'impact sur les fonctions immunitaires ou de production.

CONCLUSION

Les œufs du groupe « NOpC » issus de poules âgées et stockés 13j sont plus lourds (vitellus plus gros), perdent plus de poids au stockage, et leur taux de fertilité et taux d'éclosion sont plus bas que ceux du groupe « OpC ». Le score visuel de qualité des poussins est plus faible à l'éclosion, à 1 et 7j pour le groupe « conditions peu favorables ». En fin d'élevage, le taux de mortalité, le poids vif, le poids et la couleur des filets sont équivalents entre les 3 groupes. A noter cependant que, tous groupes confondus, le nombre de mâles morts est très supérieur à celui des femelles. La capacité antioxydante globale des poulets est plus faible pour le groupe « NOpC » en fin d'élevage mais restaurée au niveau du groupe « OpC » par l'ajout du complément nutritionnel. Cette étude confirme que des conditions précoces dégradées ont des répercussions sur les œufs et les poussins (croissance précoce et capacité antioxydante), mais qu'il est possible de les restaurer à moyen terme, par l'apport rapide après l'éclosion d'un complément alimentaire adapté (riche en énergie et micronutriments).

REMERCIEMENTS : Cette étude a été conduite dans le cadre du projet Cas Dar RT Chick'Tip (1727 - 2018/2022) et réalisée dans le cadre de l'UMT BIRD. Elle a bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture et du CIPC.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Buzyn A., 2017. Communiqué de presse du 6 octobre 2017. 1p.
Puybasset A., 2021. Réussir Volailles (web) publié le 18/11/21.
Durot A.-L. et Rufflé A., 2015. La plume verte, N°38, Mars 2015, p7-8.
Rousset N., Souillard R., Thomas R., Pezeron M., Beucher V. et al., 2017. 12e J. Rech. Av., Tours, 2017.
Heier BT, Hogasen HR, Jarp J., 2002. Prev vet medicine 53, 147-158.
Chauvin C., Le Bouquin S., Hardy A., Haguet D., Orand JP., Sanders P., 2005. Epid. Santé Anim., 48, 63-68.
Nasri H., van den Brand H., Najjar T., Bouzouaia M., 2020. J Anim Physiol Anim Nutr. 104:257–268.
Tona K., Onagbesan O, De Ketelaere B, Decuypere E, Bruggeman V., 2003. Poult Sci., 82(12),1974-9.
Narinç D, Aydemir E., 2021. World's Poultry Science Journal, 77:2, 313-329.
Bigot, K., S. Mignon-Grasteau, M. Picard, and S. Tesseraud. 2003. Poult. Sci. 82:781–788.
Bergoug H., Guinebretière M., Tong Q., Roulston N., Romanini C.E. et al., 2013. Poult. Sci., 92, 3300-3309.

Figure 1. Evolution du score total de qualité entre J0, J1 et J7 pour les 3 groupes OpC, NOpC et NOpC+ (**P*<0,05 ; ***P*<0,001 ; ****P<0,0001)

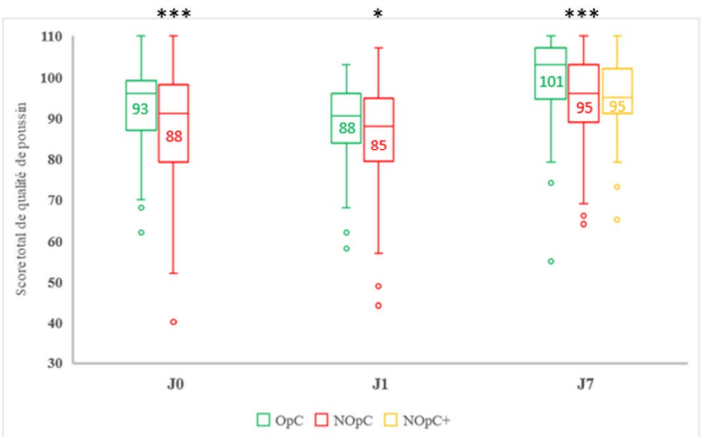


Tableau 1. Caractéristiques des œufs de chaque groupe

Indicateurs	Groupe OpC	Groupe NOpC	*p value*
Poids des œufs (g)	60,23 ± 0,25	67,54 ± 0,23	< 0,0001
Perte de poids quotidienne de l'œuf au stockage (g/j)	0,033 ± 0,001	0,062 ± 0,01	< 0,0001
Perte de poids de l'œuf pendant l'incubation (g)	5,96 ± 0,07	6,23 ± 0,06	0,002
% de perte de poids de l'œuf à l'incubation*	9,94 ± 0,107	9,40 ± 0,094	0,0003
% de coquille* (% pds MEI)	8,63 ± 0,47	9,21 ± 0,84	0,001
Force à la rupture de la coquille (N)	36,20 ± 0,62	35,48 ± 1,18	NS
% de vitellus*	30,51 ± 1,40	33,61 ± 1,96	< 0,0001
% d'albumen*	57,73 ± 1,30	53,85 ± 1,85	0,0001

* Les pourcentages de perte de poids de l'œuf à l'incubation, de coquille, de vitellus et d'albumen sont rapportés au poids de l'œuf à la MEI.

Tableau 2. Performances de reproduction en fonction des groupes

	Groupe OpC	Groupe NOpC
Fertilité (%)	96,80%	80,10%
Mortalité précoce (%) *	2,80%	13,60%
Mortalité tardive (%) *	0,90%	3,10%
Eclosion (%) **	93,20%	66,70%

* Mortalité calculée comme le nombre de morts à I7 ou à I14/nombre d'OAC fertiles
** Eclosion calculée comme le nombre de poussins éclos/nombre d'OAC mis en incubation

Tableau 3. Effet du groupe, du sexe et de l'interaction sexe – groupe sur les performances de croissance

g/animal	Groupe OpC	Groupe NOpC	Groupe NOpC+	*p groupe*	*p sexe*	*p s*g*
Poids J0	42 **b**	47 **a**		<0,0001	NS	NS
Poids J1	53 **a**	44 **b**		<0,0001	NS	NS
Poids J7	143 **a**	128 **b**	128 **b**	<0,0001	NS	NS
Poids J13	390 **a**	368 **b**	364 **b**	<0,0001	NS	NS
Poids J42	2888	2964	2936	NS	<0,0001	NS
GP1-0	11,1 **a**	-3,1 **b**		<0,0001	NS	NS
GP7-1	89,9 **a**	83,6 **b**	85,2 **b**	<0,0001	NS	NS
GP13-7	247,3 **a**	238,8 **ab**	226,5 **b**	<0,0001	NS	NS
GP42-13	2496,5	2601,4	2581,6	NS	<0,0001	NS

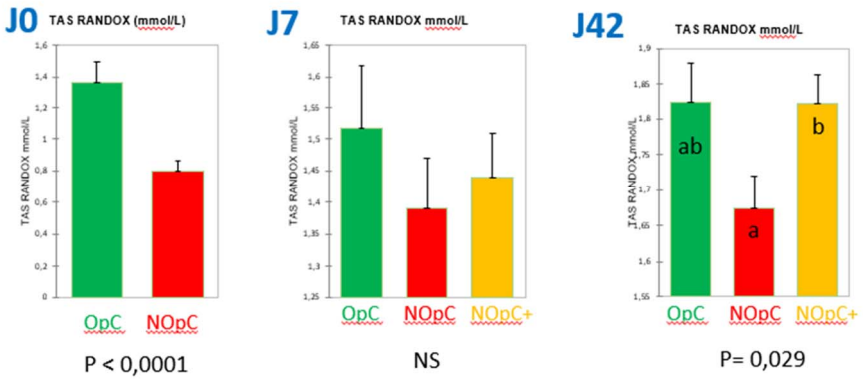
*p groupe = p value anova pour l'effet du groupe ; p sexe = p value anova pour l'effet du sexe (mâle ou femelle) ; p s*g = p value anova pour l'interaction de l'effet du sexe et du groupe ; GP : gain de poids*

Tableau 4. Effet du groupe, du sexe et de l'interaction sexe – groupe sur les critères d'abattage

	Groupe OpC	Groupe NOpC	Groupe NOpC+	*p groupe*	Femelle	Mâle	*p sexe*	*p s*g*
pHu Filet	5,92 **a**	5,96 **b**	5,95 **ab**	0,0201	5,9	5,9	NS	NS
Luminance L* Filet	44,8	44,0	44,5	NS	44,8	44,0	0,0181	NS
Indice de rouge a* Filet	1,3	1,2	1,3	NS	1,2	1,4	0,0388	NS
Indice de jaune b* Filet	12,1	12,2	12,4	NS	12,0	12,5	0,0318	NS
Poids gras abdominal (g)	53,4	54,0	51,9	NS	53,9	52,3	NS	NS
Poids *Pectoralis major* (g)	288,4	300,9	300,8	0,1057	282,8	312,2	<0,0001	NS
Poids *Pectoralis minor* (g)	61,3	63,1	64,1	0,0677	61,1	64,8	0,0002	NS

*p groupe = p value anova pour l'effet du groupe ; p sexe = p value anova pour l'effet du sexe (mâle ou femelle) ; p s*g = p value anova pour l'interaction de l'effet du sexe et du groupe ; GP : gain de poids*

Figures 2. Variation du statut anti-oxydant plasmatique (TAS) en fonction des groupes à J0, J7 et J42.



SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT- BIEN ETRE ANIMAL

Synthèse

QUALITE DU POUSSIN : INDICATEURS ET LEVIERS

Métayer-Coustard Sonia[1*], Béthuel Jean-Charles[2], Collin Anne[1], Le Bihan-Duval Elisabeth[1], Puterflam Julie[3], Travel Angélique[3]

[1] INRAE, Université de Tours, BOA, Nouzilly, France
[2] Aviagen, 49070 Beaucouzé, France
[3] ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonnière 75009 PARIS
sonia.metayer-coustard@inrae.fr

RÉSUMÉ

La qualité du poussin est un enjeu important pour les filières, d'autant plus que la durée d'élevage est réduite et ne permet pas aux poussins de moindre qualité de pleinement récupérer après la phase de démarrage. Les attentes en termes de qualité peuvent sensiblement varier en fonction des acteurs de la filière (couvoir ou éleveur). La qualité du poussin peut être évaluée par l'observation visuelle de critères qualitatifs ou la mesure de critères quantitatifs, tels que ceux décrits dans les grilles de Pasgar ou Tona. Cette approche reste cependant assez subjective et dépendante de l'observateur. L'intégration de paramètres physiologiques constitue une nouvelle approche complémentaire, qui peut permettre de mieux prendre en compte le statut immunitaire et métabolique des animaux. Il est également nécessaire de mieux comprendre l'impact des phases précoces de développement et d'éclosion dans l'établissement de la qualité du poussin. Ainsi, de nombreux facteurs, depuis la gestion du troupeau de reproducteurs jusqu'à la mise en place des animaux, sont également susceptibles d'impacter fortement la qualité du poussin. Une bonne connaissance et maîtrise de ces facteurs d'amont permettra d'obtenir des lots de poussins plus homogènes et plus robustes. Une évaluation optimale de la qualité des poussins mis en élevage permettra à l'éleveur d'optimiser les conditions d'accueil des poussins et leur surveillance, préservant la santé et le bien-être ainsi que l'expression du potentiel de production des animaux.

ABSTRACT –
CHICK QUALITY: INDICATORS AND LEVERS
Chick quality is an important issue for the industry, especially since the rearing period is short and does not allow low quality chicks to fully recover after the start-up phase. Expectations in terms of quality can vary considerably depending on the actors in the sector (hatchery or breeder). Chick quality can be assessed by visual observation of qualitative criteria or by measuring quantitative criteria, such as those described in the Pasgar or Tona grids. However, this approach remains rather subjective and dependent on the observer. The integration of physiological parameters is a new and complementary approach, which may allow the immune and metabolic status of the animals to be better taken into account. There is also a need to better understand the impact of early development and hatching phases in establishing chick quality. Thus, many factors, from the management of the breeding flock to the placement of the animals, are also likely to have a strong impact on chick quality. A good knowledge and control of these upstream factors will make it possible to obtain more homogeneous and more robust batches of chicks. An optimal evaluation of the quality of the chicks reared will allow the breeder to optimise the conditions of reception of the chicks and their monitoring, preserving the health and well-being as well as the expression of the production potential of the animals.

INTRODUCTION

La qualité du poussin est une notion complexe, dépendant de nombreux facteurs en amont à l'accueil en élevage. Elle repose sur des critères de santé, de robustesse et de bien-être animal, socle de l'expression de leur potentiel génétique.

L'éclosion est une étape clé de transition dans la vie du poussin. C'est un processus très énergivore pour l'animal qui doit puiser dans ses réserves énergétiques afin de bécher et sortir de la coquille. Dans l'œuf, le poussin bénéficie de tous les nutriments indispensables à son développement et à sa croissance, il est protégé par la coquille et les différents liquides de l'œuf, la température optimale nécessaire à son bon développement est apportée par l'incubateur. Après l'éclosion, les poussins sèchent dans l'éclosoir et reprennent des forces en puisant dans les réserves du vitellus (jaune). Mais ensuite de nouvelles étapes les attendent, ils sont triés, vaccinés et peuvent être sexés. Ils doivent ensuite attendre et être transportés avant leur mise en place dans des conditions d'ambiance parfois mal maîtrisées. Ces différentes étapes sont une source de stress non négligeable pour l'animal. Une fois dans le bâtiment d'élevage, les poussins doivent encore aller chercher à boire et à manger. Chez le poussin nouveau-né, les processus de digestion et d'absorption sont peu efficaces et bien qu'encore immatures au niveau digestif, ils subissent alors une transition alimentaire drastique puisqu'ils passent de nutriments de nature plutôt lipidique issus du jaune de l'œuf à des miettes solides riches en glucides et en protéines (Bigot et al., 2001). Leur système immunitaire est également immature puisqu'il ne bénéficie à l'éclosion que de l'immunité transmise par la poule via l'œuf, par un processus d'absorption des immunoglobulines à partir du vitellus. Leur propre immunité ne se développera que plusieurs semaines après l'éclosion (Lawrence et al., 1981). Pendant les premiers jours post-éclosion, la régulation de la température corporelle et les mécanismes de rétrocontrôles hormonaux ne sont pas encore complètement fonctionnels (Dunnington et Siegel, 1984). Les poussins ne peuvent pas thermoréguler efficacement avant environ 4 jours. L'ensemble de ces facteurs expliquent que la première semaine de vie soit aussi délicate à gérer.

Aujourd'hui, l'état du poussin (communément qualifié par sa qualité) apparait donc comme un levier d'amélioration à investiguer. La qualité du poussin est plus importante à considérer dans la filière des poulets de chair, dont la durée d'élevage est beaucoup plus courte que pour celle des poules pondeuses. Ainsi, pour le poulet de chair à croissance rapide, abattu à 5-6 semaines, le développement embryonnaire (21 jours) et la période postnatale (7 premiers jours) représentent plus de 40% de la vie de l'animal. Un poussin de moindre qualité démarrera plus lentement et tout retard de développement précoce ne sera pas rattrapé.

Le phénomène est plus marqué pour les souches actuelles de poulets à croissance rapide qui mobilisent rapidement une part de leur métabolisme pour la croissance, devenant plus sensibles à certains pathogènes (de type E. Coli, entérocoques), à la température du bâtiment (suffisante et homogène) ou à la qualité de l'eau par exemple. Ces différents facteurs éprouvent les poussins au démarrage et sont les principales causes de mortalité et d'utilisation d'antibiotiques en production de volailles. L'amélioration de la qualité du poussin est une des voies pour diminuer l'usage des intrants médicamenteux en élevage, enjeu fort de santé publique et environnementale, et plus largement pour contribuer à la préservation de la santé et du bien-être de l'animal. Ceci passe par le développement d'outils d'évaluation, puis la mise en place de leviers d'amélioration, qui font l'objet de cette synthèse.

1. QUALITE DU POUSSIN : DEFINITION ET INDICATEURS

1.1. Définition de la qualité des poussins sur le terrain

La définition de la qualité pourra sensiblement varier en fonction de l'interlocuteur auquel nous nous adressons. L'objectif principal d'un couvoir est d'optimiser l'éclosabilité et d'obtenir un grand nombre de poussins homogènes, éclos dans une fenêtre de temps étroite et sans défaut. Au couvoir, un poussin de bonne qualité est de bonne conformation, sec, propre, exempt de trace de contamination et de lésion, avec une bonne vitalité et un ombilic cicatrisé, sans résidu de vitellus ou de membrane. Les éleveurs demandent au couvoir des poussins ayant une bonne viabilité. Pour l'éleveur, un poussin de bonne qualité s'est développé de manière optimale pendant l'incubation, est en bonne santé à l'arrivée sur l'élevage et capable d'exprimer son potentiel de croissance (gain de poids quotidien, rendement en filet…). Il est robuste et permettra l'obtention de produits de qualité. L'éleveur se fonde beaucoup sur des critères sensoriels tels que l'apparence, les odeurs, les vocalises et la température des pattes (par le toucher des pattes sur la joue) pour évaluer l'état des poussins. Celle-ci est aussi appréciée au travers du contrôle du jabot plein 6h post-mise en place, de la mesure de la viabilité, de la croissance et de l'homogénéité des animaux à 10 jours.

1.2. Evaluation fine de la qualité des poussins

La qualité des poussins peut être évaluée grâce à une liste d'indicateurs dont les déterminants sont complémentaires comme l'activité et la réactivité des poussins, l'état de l'ombilic, l'état du duvet, la couleur et l'état des pattes, et d'indicateurs quantitatifs comme le poids du poussin à l'éclosion, le

poids du vitellus résiduel et la longueur du poussin (Boerjan et al., 2002 ; Tona et al., 2003 ; Meijerhof, 2009). Elle peut également intégrer des indicateurs de performance sur la première semaine de vie des poussins (viabilité, poids et homogénéité).

1.2.1. Appréciation qualitative de la qualité du poussin

La méthode la plus commune pour évaluer la qualité est basée sur la notation d'une série d'indicateurs visuels qui donnent une appréciation générale de l'état du poussin. La couleur du plumage, la qualité de l'ombilic et l'activité sont les principaux indicateurs de l'aspect physique des poussins d'un jour. Une centaine de poussins est nécessaire pour évaluer la qualité des poussins d'un lot. Cette méthode est seulement qualitative et les indicateurs sont subjectifs et fortement opérateur dépendant. Des comparaisons entre lots, jours et personnes sont compliquées.

La couleur du poussin peut être un bon indicateur de leur qualité. Les poussins de moindre qualité présentent un duvet jaune pâle à blanc (Meijerhoff, 2005). Le vitellus ou jaune de l'œuf est une source de pigments influençant la couleur du duvet du poussin éclos. Un jaune foncé serait une indication d'une bonne absorption et utilisation du jaune (Petek et al., 2010). Le jaune étant aussi une source de nutriments, d'énergie et d'immunoglobulines pour l'embryon, on comprend mieux la relation couleur du duvet/qualité de poussin. Cet indicateur peut être biaisé si le couvoir utilise du formaldéhyde pour désinfecter les œufs à couver, car ce produit donne une couleur jaune plus foncé au duvet des poussins éclos (Ceva santé, 2006).

Le poussin doit présenter une bonne conformation du corps, des pattes et doigts (fermes et droits), et du bec (Ipek et Söczü, 2013). Il ne doit pas montrer de détresse respiratoire (Decuypere et Bruggeman, 2007) et être alerte et curieux pour explorer son environnement. L'animal sera alors capable d'aller rapidement manger et boire (Meijerhof, 2005).

L'ombilic doit être propre et cicatrisé avec aucun résidu de jaune ni de membrane sèche qui en ressortent pour minimiser les risques d'infection, notamment par E. Coli (Meijerhoff, 2005a ; Decuypere et Bruggeman, 2007 ; Preez, 2007). Un ombilic non cicatrisé peut conduire à une forte mortalité (5-10%) au cours de la première semaine avec un pic autour de 5-7 jours (Hjelm, 2018). En général, la mortalité au démarrage est de l'ordre de 2% avec une variabilité importante en fonction des lots (0 à 10% sur 50 lots suivis) (Rousset et al., 2017). Différents facteurs peuvent impacter cette mortalité sur la première semaine de vie (souche, âge des reproducteurs, temps de stockage des œufs, sexe des poussins, transport…) (Yerpes et al., 2020 ; 2021).

1.2.2 Appréciation quantitative de la qualité du poussin

Plusieurs méthodes quantitatives sont décrites dans la littérature. La méthode choisie dépend du but de l'évaluation et du temps disponible à y consacrer. En effet, l'échantillonnage, la précision et le temps nécessaire entre les méthodes sont différents. Une bonne façon de mesurer la qualité est une combinaison d'indicateurs visuels du poussin associée à des indicateurs de performance, comme le poids ou la longueur du poussin (Tona et al., 2003 ; Meijerhof, 2005b ; Ipek et Sözcü, 2013 ; Ould-Ali et Schulte-Brüggelte, 2015).

A l'éclosion, le poids de l'animal peut constituer un indicateur de qualité, toutefois il prend en considération le poids de l'animal et le jaune résiduel qui, lui, ne peut être évalué sur l'animal vivant. Un poussin lourd est de bonne qualité sauf si son jaune résiduel est important car cela traduit une mauvaise utilisation de cette ressource riche en énergie et en immunoglobulines. Le jaune résiduel peut représenter 8-10% du poids de l'animal pour des Ross 308. De plus, le poids du poussin dépend fortement de l'âge des reproductrices, il est donc conseillé de le comparer à celui référencé dans les guides des sélectionneurs. La pesée de 70 animaux est suffisante pour apprécier cet indicateur dans la mesure où les poids des poussins sont homogènes à l'échelle du lot.

Le poids du poussin sans son jaune résiduel (en anglais : Yolk-Free Body Mass, YFBM) est un meilleur indicateur du développement du poussin que son poids (Preez, 2007). Le poids du jaune résiduel est soustrait au poids de l'animal. Cinquante animaux sont suffisants pour évaluer cet indicateur à l'éclosion. Un fort YFBM indique un bon développement du poussin pendant l'incubation. Cette méthode est précise pour évaluer la qualité des poussins mais elle est chronophage et demande à euthanasier des poussins.

La longueur du poussin est un autre indicateur qui peut être mesuré. Il serait un meilleur prédicteur de la performance de l'animal que de sa survie sur la première semaine. En effet, une corrélation a été mise en évidence entre la longueur du poussin à J0 et le poids de l'animal à 6 semaines (Wolanski et al. 2004, Molenaar et al 2008). Les poussins plus longs auraient aussi des organes mieux développés (Petek et al. 2010). Par conséquent, l'oxygène et les nutriments sont transportés et distribués plus efficacement aux organes comme le cœur, le foie ou la rate, plus gros chez les poussins plus longs. Ceci est également favorable au maintien de l'homéostasie corporelle et aux défenses immunitaires. Comme pour le poids du poussin, l'âge du lot de reproductrices doit être pris en considération. La mesure de la longueur du poussin reste très observateur-dépendante.

Le rendement permet d'apprécier la perte de poids au cours de l'incubation (ratio du poids de poussin/poids

initial de l'œuf). Cette mesure doit être réalisée sur un minimum de 60 œufs et poussins respectifs pour être précise. En pratique, dans les couvoirs le rapport est réalisé sur le poids moyen des poussins/ poids moyen des œufs sur un même plateau. L'objectif à atteindre est de 67-68 %. Au cours de l'incubation, une perte de poids de 10-14% par rapport au poids initial de l'œuf serait optimale pour l'obtention d'un poussin de bonne qualité (Ar et Rahn, 1980).

Les grilles de notation de Tona (Tona et al., 2003) et Pasgar (Boerjan, 2006) sont des systèmes de scores pour transformer des mesures qualitatives en scores quantitatifs et prédire la survie et la performance du poussin (Decuypere et Bruggeman 2007). Ces critères prédisent bien la survie du poussin la première semaine de vie de l'animal. En revanche, la relation avec les performances comme la croissance quotidienne est moins claire. Le score de Pasgar est basé sur l'évaluation des réflexes, l'apparence de l'ombilic, du bec, des pattes et du sac vitellin. Un poussin de 1j de bonne qualité présente un score total de 10. Pour chaque paramètre anormal, un point est retiré au score total (Boerjan, 2006). Pour le score de Tona, compris entre 0 et 100, les paramètres pris en compte sont l'activité, l'apparence du duvet, la résorption du jaune, les yeux, les pattes, la région de l'ombilic (ouverture et couleur, membrane et jaune résiduels). Une pondération des paramètres est appliquée en fonction de leur importance à dire d'experts. Dans cette grille, les yeux, les pattes et le jaune résiduel ont le plus fort impact. Pour un score maximal, les yeux doivent être ouverts et brillants et les poussins doivent pouvoir bien se tenir sur leurs pattes non inflammées ni abîmées et ne doivent pas avoir de jaune résiduel (Tona et al. 2003). Des anormalités autour de l'ombilic impactent fortement la survie et la croissance du poussin. Cette méthode de scores doit être réalisée sur 100 poussins et reste malgré tout encore subjective.

La qualité des poussins reste donc difficile à définir objectivement (Willemsen et al., 2008) et ces indicateurs ne sont pas suffisants pour évaluer de manière précise, fiable et reproductible la qualité des poussins. Il est donc nécessaire de rechercher des indicateurs complémentaires. Par exemple, la température des poussins peut être mesurée au niveau cloacal. Un poussin de bonne qualité sera un poussin capable de thermoréguler son organisme et de maintenir une température idéale comprise entre 39,5 et 40,5°C dans les premiers jours de vie.

Les jeunes poussins âgés de 2 ou 3 jours possèdent environ 5 cris : vocalisations de confort, de blotissement, de détresse, trille de plaisir ou de peur (Collias, 1953 ; Marx et al., 2001). Le type de vocalisations émises par les poussins dès l'éclosion et leur volume sonore pourraient être de bons candidats pour caractériser, de manière complémentaire, la qualité des poussins (Michaud et al., 2019). En effet, les vocalises constituent des indicateurs précoces, non invasifs, à mesurer directement sur les animaux en groupe.

Pour choisir la bonne méthode d'évaluation de la qualité des poussins, il est important d'en fixer clairement l'objectif (activité, homogénéité de poids, développement) et de considérer le temps disponible car l'échantillonnage et le temps nécessaire diffèrent d'une méthode à l'autre.

2. FACTEURS IMPACTANT LA QUALITE DU POUSSIN

Le déterminisme de la qualité des poussins est multifactoriel. Concernant les conditions de pré-incubation ou d'incubation, elles peuvent impacter à la fois le développement embryonnaire, la qualité du poussin, et ses performances ultérieures.

2.1. Conditions de pré-incubation

Les facteurs de pré-incubation tels que la souche des animaux, l'âge des poules reproductrices, leur alimentation, la santé du troupeau, la durée et/ou la température de stockage des œufs à couver (OAC) sont autant de facteurs qui peuvent impacter la qualité de l'œuf, le développement embryonnaire et par conséquent la qualité du poussin éclos, ainsi que sa viabilité au cours de la première semaine de vie (Yassin et al., 2009).

L'embryon est complètement dépendant pour sa croissance et son développement des nutriments déposés dans l'œuf par la mère. Par conséquent, le statut physiologique et la qualité du poussin à l'éclosion sont fortement influencés par l'âge et la nutrition des reproductrices.

La qualité du poussin commence par la qualité de l'œuf à couver et en premier lieu la barrière naturelle que constitue la coquille. Celle-ci représente jusqu'à 10-11% du poids total de l'œuf. C'est à la fois une protection mécanique, mais aussi une barrière vis-à-vis des microorganismes, ou encore une source de calcium pour l'embryon et elle permet les échanges gazeux à travers la membrane. Une coquille fine présentant des fêlures sera plus fragile et laissera la possibilité aux pathogènes d'entrer dans l'œuf (Moyle et al., 2008). En absence de fêlure, un œuf avec une coquille fine sera plus sujet à la déshydratation, et une forte perte d'eau pendant l'incubation pourra entrainer de la mortalité embryonnaire. Les poussins issus de ces œufs présenteront une viabilité plus faible, un démarrage lent et de moindres performances (Moyle et al. 2008). Selon l'âge du troupeau (Ulmer-Franco et al., 2010) ou le génotype des poules reproductrices (Wolanski et al., 2007), les OAC seront de taille et de composition différente (% de coquille, de vitellus ou albumen). Le vitellus est une source d'énergie et d'immunoglobulines essentielle pour les embryons. Il contient aussi des molécules liposolubles telles que les vitamines A, D, E et les caroténoïdes. Ces derniers proviennent exclusivement de l'alimentation

maternelle. Des molécules possédant un potentiel antimicrobien sont également présentes dans le jaune d'œuf (Bourin et al., 2011).

Le transport des OAC est également une étape qu'il ne faut pas négliger. Une mauvaise maitrise de l'ambiance du camion et les vibrations mécaniques sont aussi susceptibles de provoquer une baisse d'éclosabilité et de qualité des poussins éclos (Donofre et al., 2017 ; Yerpes et al., 2021).

La durée (>7j) et la température de stockage des œufs sont deux facteurs qui impactent directement la qualité du poussin (Samli et al., 2005 ; Onbasilar et al., 2007 ; Jin et al., 2011 ; Yimenu et al. 2018 ; Hemin et Khasraw, 2019 ; Nasri et al., 2020). Un stockage trop long des œufs et/ou dans des conditions mal contrôlées de température impactent le pH et la qualité de l'albumen, générant des conditions défavorables pour la qualité du poussin.

2.2. Conditions d'incubation

Les conditions d'incubation doivent être adaptées selon la génétique des animaux. La température d'incubation (Piestun et al. 2008; Loyau et al. 2015; Nyuiadzi et al., 2020); l'hygrométrie (Bruzual et al., 2000), la lumière (Rozenboim et al. 2004), le son et les vibrations (Mariette et Buchanan, 2016), les gaz (CO2 et O2; Molenaar et al., 2011 ; Amaral-Silva et al. 2017; Haron et al., 2017 ; Druyan et al., 2018) ou bien encore les odeurs (Bertin et al., 2012) peuvent avoir un impact sur le développement, la physiologie dont la thermorégulation, la qualité du poussin, la santé ou le comportement ultérieurs des oiseaux. La température constitue un des facteurs les plus importants. D'après Lourens et al. (2005), la température de coquille optimale serait de 37.8°C pendant l'incubation. Une mauvaise maîtrise de cette température de coquille (niveau et stabilité) impacte le développement des organes, la croissance de l'embryon et la qualité du poussin avec des répercussions à plus long terme sur les performances de croissance et les rendements à l'abattage (Wilson et al., 1991).
Les conditions optimales d'hygrométrie seraient entre 40 et 70% (Preez, 2007). Une mauvaise cicatrisation de l'ombilic peut être due à une température et une hygrométrie non optimales dans l'éclosoir et à une éclosion tardive. L'activité du poussin peut aussi être impactée par la température et l'hygrométrie pendant l'incubation (Meijerhof, 2005a).

La ventilation est aussi très importante. Elle permet d'éviter l'accumulation de CO2 dans l'incubateur. Les niveaux de CO2 conseillés sont compris entre 0,1 et 0,4%. Peu d'oxygène et beaucoup de CO2 peuvent induire une accumulation de liquide autour de l'embryon (Deeming, 2000). Une bonne ventilation permet en outre de prévenir une production excessive de chaleur par l'embryon pendant l'incubation.

Enfin, le retournement des œufs est indispensable pour le développement des membranes extra-embryonnaires. L'absence de retournements induit des malpositions d'embryons, des retards de croissance, une utilisation moindre du vitellus et de l'albumen, de moins bons échanges gazeux et par conséquent une moins bonne éclosabilité avec souvent une éclosion plus tardive (Deeming, 2000).

2.3 Gestion des poussins éclos

Les facteurs post-éclosion tels que le tri, le sexage, la pesée, la vaccination, les conditions d'ambiance et le temps d'attente des poussins après éclosion, les conditions de transport et le temps entre l'éclosion et la première alimentation sont autant de facteurs qui affectent la qualité du poussin (Tona et al., 2003 ; Decuypere and Bruggeman, 2007 ; Mitchell, 2009 ; Yassin et al., 2009 ; Tumova and Gous, 2012, Goliomytis et al., 2015). Outre l'impact direct sur la qualité des poussins, ces facteurs peuvent avoir des conséquences sur leur état de bien-être, de santé et sur leurs performances ultérieures (Bigot et al., 2001 ; Goerlich et al., 2012 ; Bergoug et al., 2013).

Les poussins d'un jour n'étant pas capables de réguler leur température corporelle, il est indispensable de pré-chauffer le bâtiment 48h (en été) ou 72h (en hiver) avant l'arrivée des poussins, afin de s'assurer que le bâtiment et la litière sont bien chauds. La zone de température de confort est très étroite (32- 34°C à 50% d'hygrométrie). En dessous de 32°C, les poussins se refroidissent et pour limiter les pertes de chaleur se regroupent les uns contre les autres, la répartition des poussins dans le bâtiment n'est pas homogène. Il est indispensable de contrôler et d'enregistrer la température, l'hygrométrie et la ventilation dans le bâtiment, à hauteur des animaux et d'observer le comportement des poussins (position et regroupements, piaillement, attitude, alimentation et abreuvement). Le teneur en CO^2 doit être inférieure à 3000 ppm, avec un renouvellement d'air de $3m^3/h$ et une vitesse d'air inférieure à 0,1m/s. Le réglage des équipements doit être adapté en fonction du comportement et du développement des animaux.

Les poussins doivent avoir un accès facile à l'eau et à l'aliment dès leur mise en élevage. En effet, l'alimentation précoce du poussin stimule le développement du système digestif du poussin et favorise la résorption du sac vitellin contenant nutriment, énergie et immunoglobulines (Bigot et al., 2001). Le sol doit être couvert avec de nombreux points d'alimentation dès l'arrivée des poussins, et placés à proximité des points d'abreuvement. Il est recommandé de poser de l'aliment au sol sur des papiers dédiés représentant environ 40g/poussin.
L'eau est essentielle car les oiseaux boivent jusqu'à 4 fois plus qu'ils ne mangent les deux premiers jours (source Hatchtech). Cette consommation d'eau est variable selon l'âge et le système d'abreuvement. Des abreuvoirs supplémentaires doivent être mis en place

dans les premières 24-72 heures. Vingt-quatre heures après la mise en place des animaux, au moins 96% des poussins doivent avoir le jabot plein d'aliment et d'eau. Dans le cas contraire, les points d'alimentation, la qualité et la disponibilité en eau, les conditions d'ambiance (température, intensité lumineuse) et l'état sanitaire des poussins doivent être vérifiés. Au regard du volume important ingéré par les poussins les premiers jours de vie, la qualité bactériologique de l'eau doit être assurée via des purges régulières et la désinfection de l'eau d'abreuvement.

3. LEVIERS POUR AMELIORER LA QUALITE DES POUSSINS

Des leviers peuvent être activés au niveau de la sélection, de l'élevage des reproducteurs, de l'incubation, du transport et de l'élevage des poussins. Ils ont pour objectif d'optimiser à la fois les performances d'éclosion et la robustesse des poussins, mais aussi les performances zootechniques, la santé et le bien-être des animaux tout au long de la phase d'élevage.

3.1. Leviers génétiques

Le rôle de la génétique dans le déterminisme de la qualité des poussins est peu documenté. Certains auteurs ont montré, en comparant des lignées de poulet de chair standard, Label et expérimentales porteuses du gène du nanisme, que la variabilité inter lignées génétiques de la qualité des poussins, évaluée au travers des critères visuels qualitatifs, n'était pas significative (Tona et al., 2004). En revanche, Wolanski et al. (2007) ont comparé un indicateur quantitatif de cette qualité, à savoir le poids du vitellus résiduel, entre 10 génotypes purs et commerciaux de poulet de chair. Leurs résultats montrent une variabilité non-négligeable entre génotypes pour ce critère de qualité mesuré à l'éclosion ainsi qu'à 14 jours d'âge. L'étude du déterminisme génétique de la qualité du poussin en lignées pures pourrait permettre d'identifier des indicateurs ou biomarqueurs d'intérêt pour la sélection de ce caractère.

3.2. Gestions des reproducteurs

L'alimentation des reproductrices impacte fortement la qualité de l'œuf initiale et par voie de conséquence la qualité et les performances du poussin (Chang et al., 2016). Pour ce qui est de l'apport protéique par exemple, une relation entre le niveau de protéine fourni aux reproductrices et le poids des poussins est bien établi. Plus récemment, il a été montré que des régimes équilibrés avec moins de protéines, administrés à des femelles, impactaient négativement les performances de reproduction et modifiaient la composition des oeufs mais amélioraient les performances des descendants (Lesuisse et al., 2017). Les auteurs ont également pu mettre en évidence des effets multigénérationnels de ce type de régime sur les performances des descendants (Lesuisse et al., 2018a et 2018b ; Li et al., 2018).

L'impact de l'apport énergétique n'est pas aussi bien défini que celui des protéines. Les lipides sont les éléments nutritifs majeurs du jaune, disponibles pour l'embryon en développement. L'oxydation des acides gras couvre pratiquement toute la demande énergétique de l'embryon. Ils sont donc essentiels pour le développement embryonnaire, la croissance de l'oiseau, le développement de son système nerveux central et de son système immunitaire (Noble et al., 1984 ; Ding and Lilburn, 1996 ; Cherian, 2015). Chez la poule, Menge et Richarson (1968) ont montré que des déplétions en acides gras essentiels, comme l'acide linoléique, provoquaient des éclosions plus tardives et que les descendants présentaient une croissance plus lente par rapport à un groupe contrôle. Un apport suboptimal en acides gras insaturés peut donc fortement impacter la qualité du poussin. Des variations de la composition et de l'équilibre en acide gras dans le jaune peuvent non seulement avoir des répercussions sur l'éclosabilité, le développement du tractus gastro-intestinal, la croissance et les performances des descendants mais aussi sur leur immunocompétence (Wang et al., 2004 ; Koppenol et al., 2015 ; Thanabalan et Kiarie, 2021). En élevage, les canards peuvent exprimer des comportements délétères tels que le nervosisme et le picage. L'enrichissement en AGPI n-3 LC de l'aliment des canes réduit aussi la fréquence et la gravité du picage chez les canetons. Une moindre hyperactivité et une moindre réactivité au stress des canetons issus de ces canes ont donc été observées (Baéza et al., 2017).

L'apport de minéraux tels que le calcium, le phosphore, le sodium, le potassium le magnésium et le chlore est également important du fait de leur implication dans la formation de la coquille. Une augmentation de qualité de coquille conduit en général à des œufs et à des poussins de meilleure qualité. L'apport de phosphore dans l'alimentation maternelle assure par ailleurs une bonne intégrité des os dans les stades précoces du développement du poussin.

Les antioxydants sont actuellement inclus et incontournables dans l'alimentation des volailles pour lutter contre les effets délétères des radicaux libres produits et du stress oxydant qui sont des problèmes bien connus de la production de volaille de chair (Surai, 2020). Des antioxydants naturels comme la vitamine E, le sélénium ou les caroténoïdes jouent des rôles importants dans la reproduction aviaire en maintenant les défenses antioxydantes des spermatozoïdes et des tissus des embryons (Surai et al., 2006). Les antioxydants tel que le sélénium, la vitamine E ou les caroténoïdes ajoutés dans les régimes des reproductrices sont transférés dans l'œuf puis dans les embryons (Surai, 2002). Le sélénium peut être augmenté d'un facteur 5 à 10 et sa teneur sera supérieure dans le blanc d'œuf. Il a été montré que l'injection de sélénium dans l'amnio des œufs en

développement peut être bénéfique pour améliorer les réponses immunitaires et antioxydantes chez les poussins éclos et exposés ensuite aux pathogènes responsables de l'entérite nécrotique.

Les vitamines sont impliquées dans beaucoup de voies métaboliques, et impactent le développement embryonnaire. Des carences en vitamines altèrent à la fois les performances des parents mais aussi celles de la descendance. L'apport de niveaux plus élevés de vitamine B et E augmenteraient la viabilité des poussins et leur croissance précoce.

Si on raisonne en quantité d'aliment, il est clairement établi qu'il ne faut pas sous-alimenter les reproductrices en début de production car cela impacte négativement la qualité des poussins. Une restriction alimentaire avant le début de la maturité sexuelle, par exemple, peut affecter toute une gamme d'hormones circulantes comme les hormones thyroïdiennes ou les hormones somatotropes (Bruggeman et al., 1999), or ces hormones influencent les performances ultérieures de la descendance. D'autres modifications hormonales dans l'œuf ont été mises en évidence dans le cadre de programmes de distribution de régimes à faible teneur en protéines (Rao et al., 2009). Ce régime, modifiait à la fois le taux de ponte et le poids des œufs mais aussi la quantité de leptine dans le jaune ainsi que l'expression d'un certain nombre de gènes au niveau du sac vitellin, de l'hypothalamus ou du muscle *Pectoralis major* des descendants. Les poussins présentaient un poids plus faible à l'éclosion mais une croissance post-éclosion plus rapide.

Des effets maternels ont aussi été décrits sur le développement et la composition corporelle de poussins, issus de mères rationnées, ou nourries ad libitum (van der Waaij et al., 2011).

3.3. Stockage des OAC et incubation

Tout ce qui pourra concourir à l'homogénéité des OAC sera un facteur d'amélioration qualitatif, notamment en réduisant la fenêtre d'éclosion. Les leviers testés pour rétablir une qualité de poussin optimale sont d'une part l'ambiance de stockage des œufs, et d'autre part des traitements appliqués aux œufs en cours de stockage s'ils doivent être stockés longtemps. Pour les œufs embryonnés de dindons, par exemple, les œufs peuvent être pré-incubés à 37,5°C pendant 12h. Ce traitement permet à l'embryon d'atteindre un stade de développement (stade XI), qui augmente la survie pendant le stockage. De la même façon, de nouvelles stratégies de stockage des œufs embryonnés sont testées chez le poulet. Les œufs peuvent être stockés à différentes températures : plus fraîche (11,5°C) pour limiter la mort des cellules embryonnaires, plus élevée (18°C) avec des traitements de préchauffage (4 heures entre 32 et 35°C) à 6 et 10 jours après la ponte pour que l'embryon atteigne un stade de développement embryonnaire robuste (SPIDES). Ces traitements permettent de diminuer la mortalité embryonnaire pendant le stockage et l'incubation et ont amélioré la qualité des poussins éclos en comparaison d'une température de stockage fixe à 18°C (Tona et al., 2003 ; Dymond et al., 2013 ; Gucbilmez et al., 2013 ; Pokhrel et al. 2017).

3.4. Gestion des poussins depuis l'éclosion jusqu'à leur mise en place en bâtiments d'élevage

Les premières heures après l'éclosion sont critiques et stressantes pour les animaux qui sont manipulés pour être vaccinés, mis en boite en attendant d'être transportés jusqu'à la ferme où ils auront accès à l'eau et l'aliment (Bergoug et al., 2013). Elles sont d'autant plus difficiles pour les poussins issus d'œufs de reproducteurs de début ou de fin de ponte (Yassin et al., 2009). L'environnement des poussins pendant l'attente au couvoir et le transport vers l'élevage devra permettre de préserver leur intégrité. Un poussin dont l'intégrité physique a été préservée sera un poussin plus robuste. Pour les transports longs ou les transports de poussins futurs reproducteurs, des suppléments à humidifier, ou des gels riches en protéines digestibles, vitamines, énergie, acides aminés, acides gras peuvent être ajoutés dans les boites de transport pour aider les poussins à s'alimenter et s'hydrater et ainsi favoriser la maturation de leur tube digestif.

Il est essentiel pour le processus de démarrage de mesurer la température des oiseaux et de gérer la température dans le bâtiment. La température des poussins devrait être surveillée pendant les trois ou quatre premiers jours. Les heures suivant l'éclosion, les paramètres chimiques de l'environnement ainsi que l'ambiance doivent être bien maîtrisés, avec une température de 32-34°C et une hygrométrie de 55-65% (de Gouw et al., 2017). Les poussins issus de jeunes parentales sont plus petits et ont besoin d'une température plus élevée que les poussins issus des parentales plus âgées, environ 1°C de plus pendant les premiers 7 jours. La règle principale sera de toujours adapter et optimiser les conditions d'ambiance à la qualité et l'homogénéité du lot reçu.

Pour améliorer l'environnement et le bien-être des poussins après l'éclosion, certains couvoirs disposent d'un système permettant d'alimenter et d'abreuver directement les poussins nouvellement éclos et de les garder à la bonne température, avec de la lumière (par exemple : HatchCare ou HatchBrood développé par HatchTech). Les poussins seront ensuite transportés vers leurs bâtiments d'élevage à 4 jours d'âge.

3.5. Eclosion à la ferme

L'éclosion à la ferme est utilisée en poulet de chair bien qu'elle demande davantage de dépenses de chauffage, de temps de travail et d'attention de l'éleveur. Ces conditions d'éclosion, favorables au

bien-être animal, sont en plein développement dans de nombreux pays européens. L'éclosion des poussins en bâtiments d'élevage repose sur le transfert des œufs embryonnés à 18 jours vers le bâtiment permettant au poussin un accès à l'aliment et à l'eau dès l'éclosion. Tous les bâtiments ne se prêtent pas à l'éclosion à la ferme car ils doivent être bien isolés pour maintenir une température constante de 35°C.

Il existe plusieurs systèmes d'éclosion à la ferme : les systèmes avec installation permanente dans le bâtiment de type X-Treck (Vencomatic), "écloferme", Patio ou FarmChick, ou bien encore des systèmes flexibles de type Nestborn ou One2Born (van de Ven et al., 2009 ; 2011 ; Giersberg et al., 2021). Le bâtiment doit être propre, préalablement chauffé à une température avoisinant 35°C en ambiance. L'éclosion à la ferme se déroule comme au couvoir. Les premiers poussins éclos peuvent aller boire et manger sans attendre et aucun n'a connu de manutention au couvoir ni de transport ce qui limite beaucoup le stress de démarrage. D'après Van Meirhaeghe H. (Filières Avicoles, 05/2021), avec ces systèmes, les poussins naissent à leur rythme, ils sont plus calmes, après l'éclosion, ils se reposent, se sèchent, avant d'aller boire et manger. A contrario au couvoir, les poussins juste éclos et manipulés piaillent, ce qui peut être interprété comme un signe de stress. L'éclosion à la ferme permet souvent d'obtenir de meilleures performances avec des indices de consommation 2 à 4% moins élevés, et des animaux en meilleure santé, affichant une baisse de 50 % de la nécessité d'avoir recours à un traitement antibiotique. Moins de pododermatites sont aussi observées, ce qui est un signe d'une litière plus sèche potentiellement expliquée par une meilleure santé intestinale.

Bien que les études montrent que cette solution est globalement bénéfique du point de vue de la santé et des performances (une réduction de l'utilisation des antibiotiques et des traitements contre la coccidiose, un à deux points d'indice de consommation, moins de stress pour les animaux) (van de Ven et al., 2009 ; 2011). Dans le contexte français, l'occupation du bâtiment pour les 3 jours d'éclosion, réduit au final le nombre de cycles par an pour l'éleveur. Le système d'éclosion à la ferme est un système très prometteur sur le plan du bien-être animal et des performances, mais il est gourmand en énergie, il faut donc envisager ces éclosions à la ferme dans des bâtiments récents et bien isolés. Les systèmes X-treck et Nestborn sont présents en France, mais le retour sur investissement est compliqué car il n'y a pas de valorisation sur le produit. Le déploiement de ces systèmes est plus important à l'étranger car leur cahier des charges oblige l'accès à l'eau et à l'aliment dans les 24 heures. Cette solution plus respectueuse du bien-être des poussins véhicule une image positive du métier d'éleveur et de la production de volailles de chair.

CONCLUSION

La qualité de poussin est un enjeu de filière. Le temps de formation de l'œuf à couver et de formation du poussin est aujourd'hui équivalent à la durée d'élevage du poulet standard. Il est donc nécessaire d'investir autant d'attention dans les étapes de formation et d'éclosion du poussin que dans les phases d'élevage du poulet de chair. La connaissance par l'éleveur de l'âge des reproductrices, l'heure et la durée d'éclosion et le temps de transport lui permettrait de mieux anticiper les conditions sanitaire et thermique pour l'accueil des poussins et leur surveillance ultérieure. Il convient maintenant de trouver comment aider les éleveurs à évaluer la qualité des poussins à leur arrivée. Les voies d'amélioration actuelles sont de développer des outils pratiques faciles d'utilisation pour une évaluation rapide et répétable de la qualité des poussins reçus par les éleveurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Amaral-Silva L.D. et al., 2017. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol., (207), 93-99
Ar A. et Rahn H., 1980. Am. Zool., (20), 373-384
Baéza E. et al., 2017. Poult. Sci., 96(9), 3176-3187
Bergoug H. et al., 2013. Poult. Sci., 92(12), 3300-3309
Bertin et al., 2012. Chemical senses, 37(3), 253-261
Bigot et al., 2001. INRAE Productions Animales, 14(4), 219-230
Boerjan M.L. et al., 2002. Avian and Poultry Biology Reviews, (13), 237-238
Boerjan, M.L., 2006. Australian Poultry Science Symposium. (18), 174-181
Bourin M., 2011. In: Thèse de l'Université François Rabelais de Tours, 23-48
Bruggeman V. et al., 1999. Poult. Sci., 78(10), 1424-34
Bruzual J.J. et al., 2000. Poult. Sci., 79(6), 827-830
Ceva santé, 2006. Hatchery expertise online, (6)
Chang A. et al., 2016. Animal Production Science 2016, 56(8), 1254-1262
Cherian G., 2015. J. Anim. Sci. Biotechnol., 6(1), 28.
Collias N. et Joos M., 1953. Behavior, (5), 175
Decuypere E. et Bruggeman V., 2007. Poult. Sci., 86(5), 1037□1042
Deeming D.C. 2000. World's Poult Sci J. (11), 34-35.
de Gouw P. et al., 2017. Research in Veterinary Science, (112), 201-207
Ding S.T., Lilburn M.S., 1996. Poult. Sci., 75(4), 478-83
Donofre et al., 2017. Journal of Agricultural Engineering, (48), 593
Druyan et al., 2018. Poult. Sci., 97(6), 1961-1967
Dunnington E.A. et Siegel P.B., 1984. Poult Sci., 63(7), 1303-1313
Dymond J. et al., 2013. Poult. Sci., 92(11), 2977-2987
Giersberg M.F. et al., 2021. Poult. Sci., 100(3), 100946
Goliomytis M. et al., 2015. Poult. Sci., 94(9), 2257-2265
Goerlich V.C. et al., 2012. Horm. Behav., 61(5), 711-718
Gucbilmez et al., 2013. Poult. Sci., 2(12), 3310-3313
Haron et al., 2017. Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology, (203), 32–39
Hemin N.M. et Khasraw A.A., 2019. Applied ecology and environmental research. 17(5), 12419-12439
Hjelm C., 2018. In : Degree project in Animal Science. http://stud.epsilon.slu.se.
Ipek A. et Sözcü A., 2013, Journal of Agricultural Faculty of Uludag University, 27(2), 131-137
Jin Y.H. et al., 2011. Asian-Aust. J. Anim. Sci., 24(2), 279-284
Koppenol A., et al., 2015. Poult. Sci. 94(1), 43-52.
de Lange G., 2015. Pas Reform Hatchery Technologies, https://www.pasreform.com/en/knowledge/49/red-hocks-in-day-old-chicks-or-poults
Lawrence E.C. et al., 1981. Clin. Exp. Immunol. (43), 450-457
Lesuisse J., 2017. Poult. Sci., 96(11), 3949-3959.
Lesuisse J., 2018a. Poult. Sci., 97(5), 1666-1676
Lesuisse J., 2018b. Poult. Sci., 97(5), 1651-1665
Li et al., 2018. Animal, 12(7), 1493-1500
Lourens A. et al., 2005a. Poult. Sci., 84(6), 914□920
Loyau et al., 2015. Animal : an international journal of animal bioscience, 9(1), 76-85
Mariette et Buchanan., 2016. Science. 353(6301), 812-4
Marx G., et al., 2001. Applied Animal Behaviour Science, 75(1), 61-74
Meijerhof R., 2005. Hybro B.V.
Meijerhof R., 2005. Int Hatch Prac., (19), 7
Meijerhof R., 2009. In: Proceedings of the 20th Australian Poultry Science Symposium, Sydney, Australia, pp.167-170
Menge H. et Richardson G.V., 1968. Poult. Sci., 47, 542-547
Michaud et al. 2019. In: Proceedings des Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, pp375-379
Mitchell M.A., 2009. Avian Biology Research, (2), 99-105
Molenaar R. et al., 2008. World's Poult Sci J., 64(4), 599□604
Molenaar R. et al., 2011. Poult. Sci., 90(6), 1257-66.
Moyle et al., 2008. Poult. Sci. 87(Suppl.1),146
Mróz E. et al., 2013. Annals of Animal Science, 13(3), 543□552
Mukhtar N. et Khan S.H., 2013. World's Poult Sci J., 69(4), 889-896

Nasri H. et al., 2020. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 104(1), 257-268
Noble R.C. et al., 1984. Poult. Sci., 63(3), 558-64
Nyuiadzi C. et al., 2020. Poult. Sci. 99(2), 857-868
Onbasilar E.E. et al., 2007. Archiv fur Geflugelkunde., 71(4), 187-191
Ould-Ali D. et Schulte-Brüggelte R., 2015. International Poultry Production, 23(4), 15□19
Petek A. et al., 2010. Arch. Anim. Breed., 53(1), 108□115
Piestun et al., 2008. Poult Sci., 87(8), 1516-25
Pokhrel et al., 2017. Poult Sci., 96(12), 4399-4408
Powell J.G. et Bowman, J.C., 1964. British Poultry Science, (5), 121-132
Preez J.H., 2007. Master of philosophy in livestock industry management. Department of Poultry Science, University of Stellenbosch.
Rao K. et al., 2009. Br. J. Nutr., 102(6), 848-57.
Rousset N. et al. 2017. 12e JRA-JRFG. 5 et 6 avril 2017, Tours.
Rozenboim et al., 2004. Poult. Sci., 83(5), 842-5
Samli H.E. et al., 2005. Journal of Applied Poultry Research, (14), 548-533
Schulte-Druggelte R., 2016. *Zootecnica International.* https://zootecnicainternational.com/poultry-facts/review-different-day-old-chick-quality-parameters-layer-type-breeds-part-2/
Surai P.F., 2002. World's Poult Sci J., 58(4), 431-450
Surai P.F., 2006. In: Nottingham University Press; Nottingham, UK: 2006. Selenium in nutrition and health.
Surai P.F., 2020. Antioxydants, (9), 105
Thanabalan A. et Kiarie E.G., 2021. Front Vet Sci., (28), 8:653152
Tona K. et al., 2003. Poult. Sci. 736-741
Tona K. et al., 2004. The Journal of Applied Poultry Research, 13.
Tumova E. and Gous R.M., 2012. Poult. Sci., 91(5), 1269-75.
Ulmer-Franco A.M. et al. 2010. Poult. Sci., (89), 2735-2742
Uyanga, V.A. et al., 2020. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition n/a, 1–9.
Van de Ven L.J.F. et al., 2009. Poult. Sci., 88(11), 2273-9
Van de Ven L.J.F. et al., 2011. Poult. Sci., 90(6), 1267-75
van der Waaij E.H. et al., 2011. Animal, 5(5), 741-8.
Ven, L. et al., 2012. Animal., (6), 1677-83.
Wang Y.W. et al., 2004. Poult. Sci., 83(12), 2039-43.
Wiley, W.H., 1950. Poult. Sci., 29, 570-574
Willemsen H., 2008. Poult. Sci., 87(11), 2358-2366
Wilson, H.R., 1991. World's Poult Sci J., (47), 5-20
Wolanski N.J. et al. 2004. Avian Poult. Biol. Rev., (15), 233-234
Wolanski N.J. et al., 2006. Poult. Sci., 85(8), 1490□1497
Wolanski N.J. et al., 2007. Poult. Sci., 86(8), 1784□1792
Yassin H. et al, 2009. Poult. Sci., (88), 798-804
Yerpes M. et al., 2020. Animals, 10(2), 310
Yerpes M. et al., 2021. Poult. Sci.,100(1), 129-137
Yimenu S.M. et al., 2018. Poult. Sci., 97(12), 4384-4391

SESSION

HYGIENE ET QUALITE

DES PRODUITS

SESSION
HYGIENE ET QUALITE
DES PRODUITS

Synthèse

QUALITE TECHNOLOGIQUE ET CARACTERISTIQUES DES PRODUITS TRANSFORMES DE VOLAILLES

Daviet Léa[1], Jarrault Céline[1], Baéza Elisabeth[2]*

[1] Fleury Michon, Service R&D, pôle recherche, BP 1, 85707 Pouzauges, France
[2] BOA, INRAE, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France

*elisabeth.baeza-campone@inrae.fr

RÉSUMÉ

La consommation de viande de volailles ne cesse de progresser en partie grâce au développement des produits élaborés. La grande majorité de la viande utilisée pour la transformation provient de la production standard. Cette production repose sur l'utilisation de souches dont la croissance est très rapide et dont les rendements en viande (filet en particulier) sont très élevés. Depuis une dizaine d'années, sont apparus des défauts d'intégrité musculaire graves au niveau du filet : le *White Striping*, le *Wooden Breast*, et le *Spaghetti Meat*, qui altèrent les propriétés nutritionnelle, technologique et sensorielle de la viande de poulet. Par ailleurs, afin de répondre à la demande sociétale en termes de bien-être animal, on assiste actuellement à une diversification des modes de production favorisant des itinéraires d'élevage moins intensifs basés sur l'utilisation de souches moins performantes sur la vitesse de croissance et le rendement en viande et élevées en densité moindre. Par conséquent, les sources d'approvisionnement pour l'industrie de la viande se diversifient. Dans cette revue, nous présenterons tout d'abord la diversité et la qualité nutritionnelle des produits transformés. Nous verrons ensuite si la matière première disponible est bien adaptée à la transformation. Enfin, nous détaillerons les stratégies mises en œuvre par l'industrie pour gérer la variabilité de la matière première, les exigences règlementaires et sanitaires et les attentes des consommateurs.

ABSTRACT
Technological quality and characteristics of poultry processed products

The consumption of poultry meat continues to increase in part thanks to the development of processed products. The vast majority of the meat used for processing comes from standard production. This production is based on the use of strains whose growth is very rapid and whose meat yields (especially fillet) are very high. Over the past ten years, serious integrity defects have appeared in the breast muscles: white striping, wooden breast and spaghetti meat, which alter the nutritional, technological and sensory properties of chicken meat. Moreover, in order to meet societal demand in terms of well-being, there is currently a diversification of production methods favouring less intensive breeding systems based on the use of less efficient strains on growth rate and meat yield and reared with lower densities. The sources of supply for the meat industry are then diversifying. In this review, we will first present the diversity and nutritional quality of processed products. We will then see if the available raw material is well adapted to processing. Finally, we will detail the strategies implemented by the industry to manage raw material variability, regulatory and health requirements and consumer expectations.

INTRODUCTION

Depuis 2017, la viande de volaille est la première viande consommée au niveau mondial (FAO, 2017). Selon les données de l'organisme de statistiques agricoles AGRESTE (2020), la consommation française de viande de volaille était de 30,5 kg/habitant/an en 2019, dont 22 kg de poulet, 4,5 kg de dinde, 3,2 kg de canard et 1 kg d'autres volailles (oies, pintades, …). Elle se positionne au deuxième rang derrière la consommation de viande porcine qui était de 34 kg/habitant/an en 2019. Une part du succès de la viande de volailles, en particulier de poulet, est qu'elle est de plus en plus utilisée pour la transformation en produits élaborés dont la consommation ne cesse de croître. Si l'on considère le poulet, principale volaille consommée en France, la part de marché des produits élaborés était de 30% en 2019, contre 49% pour la découpe et 21% pour le poulet PAC. En 1998, la part des produits élaborés n'était que de 15% et en 2009 elle représentait 26%.

A l'exception de certains pays comme la France dont la production sous signe de qualité est significative (Label Rouge notamment) et tend à préserver la consommation de poulets entiers, la grande majorité de la viande de volaille est issue de la production standard. Celle-ci utilise des souches dont la croissance est toujours plus rapide et dont les rendements en viande (filet en particulier) n'ont cessé d'augmenter. La production de poulets standards permet actuellement de fournir à l'industrie de la découpe et de la transformation des poulets présentant des rendements en filets compris entre 20 et 25% du poids vif selon l'âge et le poids à l'abattage et dont l'engraissement périphérique reste limité (Baéza *et al.*, 2012).

Ces dernières années, la forte demande en produits transformés à base de viande de volaille s'accompagne d'une pression sociétale de plus en plus forte concernant les conditions d'élevage des animaux, avec des attentes en termes de bien-être animal mais aussi de qualité, que ce soit sur le plan sanitaire, nutritionnel et sensoriel. Ce contexte concerne la plupart des pays européens et on assiste actuellement à une diversification des modes de production favorisant des itinéraires d'élevage moins intensifs basés sur l'utilisation de souches moins performantes sur la vitesse de croissance et le rendement en viande, élevées en densité moindre, dans des milieux enrichis ou dans certain cas avec accès à un parcours extérieur. Ceci concerne la production Bio mais aussi plusieurs labels issus de l'agriculture conventionnelle européenne (ex : « Better Chicken Commitment ») ou française (ex : « Label Rouge », « Qualité Certifiée »).

Dans cette revue, nous présenterons tout d'abord la diversité et la qualité nutritionnelle des produits transformés. Nous verrons ensuite si la matière première disponible est bien adaptée à la transformation. Enfin, nous détaillerons les stratégies mises en œuvre par l'industrie pour gérer la variabilité de la matière première, répondre aux exigences règlementaires et sanitaires et satisfaire les attentes des consommateurs.

1. DIVERSITE ET QUALITE NUTRITIONNELLE DES PRODUITS TRANSFORMES

Les produits transformés à base de viande de volaille peuvent être classés en quatre grandes catégories : produits panés (cordons bleus, escalopes à la viennoise, nuggets), charcuteries (pâtés et terrines, rillettes, boudin blanc, saucisses et saucissons, galantine), produits élaborés saumurés, marinés ou crus (découpes, brochettes, produits hachés et farcis) et produits cuits (jambons, confits, rôtis). En France, le marché de la volaille en rayon libre-service représente environ 215 kT dont 58% de produits crus et marinés de volaille, 16% de charcuteries et jambons cuits de volaille, 20% pour les autres produits cuits élaborés et 6% pour la saurisserie (d'après IRI Kantar, 2020, communication personnelle). En France, ces produits sont parfaitement définis et décrits (voir Tableau 1 pour l'exemple de la composition du cordon bleu de volaille) dans la note technique n°B1-19-08 élaborée par le groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition (GEMRCN, 2008). La proportion de viande de volailles dépend du type de produit.

Les produits transformés de volaille sont élaborés en utilisant un nombre et une quantité d'ingrédients variables selon la catégorie de produits. En France, la transformation de la viande de volaille est cadrée par le code des usages du CIDEF (2019). Les principaux ingrédients utilisés sont l'eau, des sels, des épices et des agents conservateurs et texturant (Barbut, 2015). L'eau permet d'assurer une meilleure diffusion du sel et des aromates et de compenser les pertes en jus au cours de la cuisson. Elle accroît la jutosité et réduit la teneur en lipides des produits. Plusieurs sels peuvent être utilisés : chlorure de sodium, phosphates, nitrites, nitrates, sodium ascorbate et sodium erythorbate. Ils agissent sur la flaveur, la solubilisation des protéines, le pouvoir de rétention de l'eau de la viande et ils ont un rôle antimicrobien et antioxydant. Les épices sont utilisées pour leur action sur la flaveur et la couleur (exemple : le paprika) des produits. Ils ont également des propriétés anti-oxydantes et antimicrobiennes (exemple : le romarin). Selon les catégories de produits, il est possible aussi d'utiliser des arômes, des agents sucrant et brunissant, des antioxydants, des ferments, des inhibiteurs de moisissures, des acidifiants, des enzymes et des gélifiants. Les produits transformés utilisent les propriétés gélifiantes et liantes des protéines et les propriétés liantes et émulsifiantes des lipides de la viande. Les principaux gélifiants sont dérivés des protéines animales (lait, collagène, plasma sanguin) ou végétales (soja, pois). Les autres agents texturant sont des sucres complexes

(exemple : amidon de blé ou de maïs) ou des gommes hydrocolloïdes issues des algues (alginate, carragénanes ; Amini Sarteshnizi *et al.*, 2015). Les produits peuvent également être fumés de façon traditionnelle ou en utilisant une fumée condensée liquide. Certains produits transformés (saucisses, mortadelle) peuvent être enveloppés dans une matrice naturelle (boyaux, structure de collagène) ou synthétique (cellulose, plastique).

En France, les valeurs nutritionnelles moyennes des produits sur le marché sont consultables gratuitement sur le site du CIQUAL (2021) de l'ANSES. Le tableau 2 présente les valeurs nutritionnelles de quelques produits commercialisés en France tels que le blanc de poulet, les saucisses, le cordon bleu et les nuggets.

Dans la littérature scientifique internationale, peu d'études décrivent la composition de produits transformés de volailles (Tableau 3). Les nuggets sont riches en lipides, acides gras saturés (AGS ; Gibbs *et al.*, 2013), carbohydrates et sel. Selon Albuquerque *et al.* (2016), au Portugal, une portion journalière de nuggets peut représenter jusqu'à 49% du besoin journalier en sel d'une personne adulte. Dans la base CIQUAL (2021), la teneur moyenne en sel des nuggets est de 1,37%. Une portion de 100 g de nuggets représente donc 23% du besoin journalier d'une personne adulte (sur la base de 6 g/j). Une analyse histologique de nuggets commercialisés aux USA a mis en évidence que l'émulsion de viande contenait en fait 40-50% de muscle, le reste étant de la graisse, des nerfs, des vaisseaux sanguins, de l'épithélium de peau ou de viscères et des spicules osseux (De Shazo *et al.*, 2013). Kayisoglu *et al.* (2003) ont analysé la composition chimique de kebabs de poulets crûs et cuits commercialisés en Turquie. La cuisson accroît la teneur en protéines (27,89 *vs.* 19,80%), en sel (1,66 *vs.* 1,12%) et en minéraux (2,37 *vs.* 1,91%) alors que la teneur en lipides diminue (12,81 *vs.* 15,99). Vazgecer *et al.* (2004) ont également analysé la composition chimique de kebabs de poulet commercialisés en Turquie qui contiennent 26% de protéines, 21% de lipides et 12% de collagène. Panozzo *et al.* (2015) ont analysé la qualité nutritionnelle de kebabs commercialisés dans le nord de l'Italie contenant de la viande de poulet et/ou de dinde. De leur étude, il ressort que la recette est très standardisée. Les différences observées pour l'apport en carbohydrates dépendent uniquement de la quantité de pain utilisée. Un kebab couvre 45 et 36% du besoin quotidien en énergie, 95,7 et 82,1% du besoin en protéines et 42,5 et 33,4% du besoin en AGS pour une femme et un homme adulte, respectivement et 85,5% du besoin en sel. Bartholoma *et al.* (1997) ont fait une enquête sur les kebabs achetés dans des commerces de détail de cinq régions d'Allemagne en 1996. Leurs analyses ont montré que la quantité de viande et sa teneur en lipides n'étaient pas conformes à la règlementation allemande qui prévoit un maximum de 60% de viande hachée et une teneur en lipides inférieure à 20%.

Il existe donc une offre très large de produits transformés et pour un type de produit, la composition et les caractéristiques nutritionnelles peuvent être très variables selon la règlementation du pays. La proportion de viande de volaille dépend aussi du type de produit. Plus cette proportion sera élevée et plus la qualité de la matière première pourra impacter la qualité du produit transformé. Qu'en est-il de la variabilité de la qualité de la matière première mise à disposition de l'industrie de la viande de volaille ?

2. LA MATIERE PREMIERE DISPONIBLE EST-ELLE ADAPTEE A LA TRANSFORMATION ?

La grande majorité de la viande de volailles utilisée pour approvisionner le marché des découpes et des produits élaborés est issue de la production standard (Hercule, 2019). Cette production repose sur l'utilisation de souches dont la croissance est très rapide et dont les rendements en viande (filet en particulier) sont très élevés. Ainsi, les poulets destinés à l'industrie de la découpe et de la transformation peuvent atteindre un poids de 2 kg en 5-6 semaines et présentent des rendements en filets compris entre 20 et 25% du poids vif selon l'âge et le poids à l'abattage (Baéza *et al.*, 2012). Ces animaux ont fait l'objet d'une sélection intensive sur la croissance et les rendements en muscles pectoraux, illustrée par Zuidhof *et al.* (2014) qui comparent le poids de poulets de 1957 (900 g) et de 2005 (4,2 kg) et Petracci *et al.* (2015) qui montrent que les rendements en filets ont augmenté de 13,5% en 1957 à 21% en 2012.

Les conséquences de la sélection pour la croissance et les rendements en filet sur la qualité de la viande ont commencé à être étudiées il y a une vingtaine d'années. Il a été montré que l'amélioration génétique avait conduit à une hypertrophie des fibres musculaires et un amenuisement des réserves en glycogène du filet qui se sont traduits par une augmentation du pH ultime et globalement une amélioration de la tendreté et de la qualité technologique des filets (Berri *et al.*, 2001 ; 2007).

Cependant, une étude menée par la Commission Européenne en 2012, en collaboration avec la société LGC, a mis en évidence une augmentation de 1 à 2% de la teneur en eau des filets de poulets et au contraire une diminution du taux de protéines de 1 à 3% depuis la précédente étude, menée en 1994 (LGC, 2016).

Par ailleurs, depuis une dizaine d'années, des défauts d'intégrité musculaire graves sont apparus au niveau du filet : le *White Striping*, le *Wooden Breast*, et le *Spaghetti Meat*, qui présentent des similitudes avec certaines myopathies humaines. Ces défauts apparaissent essentiellement sur les filets issus de poulets à croissance rapide et fort rendement en filet, et leur incidence augmente avec le poids et l'âge à l'abattage des animaux. Ces défauts impactent en premier lieu l'aspect des filets et donc leur acceptabilité par le consommateur (Kuttappan *et al.*, 2012). Ils altèrent également la qualité nutritionnelle,

avec notamment une augmentation significative de la teneur en lipides dans le cas du *White Striping*, et du collagène, dans le cas du *Wooden Breast*, au détriment de la teneur en protéines musculaires (Mudalal *et al.*, 2014). La fonctionnalité des protéines et la qualité technologique sont également très impactées avec des rendements à la transformation très détériorés, en particulier dans le cas du *Wooden Breast*, malgré un pH tissulaire plus élevé (Mudalal *et al*., 2015 ; Baldi *et al*., 2019 ; Zhang *et al.*, 2020). La susceptibilité à l'oxydation (lipides et protéines) est également accrue (Baldi *et al*., 2018) et les teneurs en carnosine et ansérine (peptides présentant des activités anti-oxydantes) sont moindres (Sundekilde *et al*., 2017). Ces défauts ont fait l'objet d'un nombre important de publications mais citons ici quelques ouvrages et synthèses récents qui rassemblent la plupart des connaissances acquises à ce jour : Petracci *et al.* (2017), Baéza *et al.* (2018), Petracci *et al.* (2019).

Malgré l'ensemble des connaissances acquises récemment sur l'étiologie des défauts et les mécanismes impliqués, leur incidence reste élevée et encore mal maitrisée. De plus, les filières d'approvisionnement de la découpe et de la transformation se diversifient, faisant appel à des itinéraires de production plus ou moins intensifs ou répondant à des cahiers des charges bien spécifiques (Label Rouge, Bio, etc.). Or, selon une étude collaborative entre l'INRA, l'ITAVI et l'ADIV, menée en 2003, l'utilisation de poulets à croissance intermédiaire et lente pour la fabrication de blancs et de jambons de poulets se traduit par des rendements technologiques inférieurs par rapport à ceux fabriqués à partir de filets de poulets standards, et un produit fini jugé plus sec (Berri *et al*., 2005). Singh *et al.* (2016) ont comparé l'influence de la souche de poulet (une souche à croissance rapide, Cobb 400 et 3 souches locales indiennes) sur la qualité des nuggets. Les nuggets produits avec la souche Cobb 400 sont les plus riches en eau et en lipides. Ils présentent également l'émulsion la plus stable, le rendement en cuisson le plus important et les notes de couleur, d'apparence et de flaveur les plus élevées. Enfin, Nunes *et al.* (2006) ont fabriqué des nuggets avec de la viande de reproducteurs Gallus et de poules pondeuses de réforme et ils n'ont pas mis en évidence de différence d'appréciation sensorielle par un panel de 400 consommateurs en comparaison avec des nuggets produits à partir de viande de poulet standard.

L'ensemble des évolutions récentes fait qu'il existe une variabilité croissante d'aptitudes à la transformation des filets de poulets, avec des conséquences sur les rendements technologiques au cours de la transformation impactant non seulement la performance industrielle mais aussi la qualité sensorielle des produits, en particulier leur apparence visuelle, leur texture et leur goût, entrainant une insatisfaction des consommateurs. La variabilité des matières premières (intra et inter-filières, intra et inter-fournisseurs) est aujourd'hui subie et insuffisamment maitrisée. Les problèmes technologiques associés vont s'amplifier dans un contexte d'évolution des pratiques d'élevage mais également des pratiques de transformation des produits finis visant à réduire l'ajout de sel ou supprimer certains additifs sous la pression d'attentes sociétales fortes.

3. COMMENT L'INDUSTRIE GERE-T-ELLE LA VARIABILITE DE LA MATIERE PREMIERE, LES EXIGENCES REGLEMENTAIRES ET SANITAIRES ET LES ATTENTES DES CONSOMMATEURS ?

L'industrie de la viande modifie régulièrement les recettes et procédés de transformation pour améliorer le rendement technologique, les qualités sensorielle et nutritionnelle et l'aptitude à la conservation des produits.

Pour améliorer le **rendement technologique**, les études se sont surtout focalisées sur le rendement après cuisson en testant différentes sources et niveaux de fibres ou d'amidon et en analysant aussi les effets sur la qualité sensorielle et/ou nutritionnelle des produits transformés (Baéza, 2020). Par exemple, Gokce *et al.* (2016) ont testé l'utilisation de différentes farines de céréales et légumes pour fabriquer des nuggets de poulet. Les farines de blé et maïs permettent d'obtenir les meilleurs rendements après cuisson. La farine de seigle diminue leur tendreté. Kim *et al.* (2012) ont testé deux durées de barattage sur la qualité du blanc de poulet. Un barattage de 60 min accroit la capacité de rétention de l'eau et améliore la texture du blanc de poulet par comparaison avec un barattage de 10 min. Incorporer 1% albumine d'œuf permet d'augmenter le rendement de transformation et la qualité sensorielle de rôtis préparés avec des filets de dinde de type PSE (*Pale, Soft and Exsudative* ; Ozturk et Serdaroglu, 2017). Cavalcante da Rocha *et al.* (2020) ont fabriqué des saucisses de poulet avec des filets atteints de *Wooden Breast* sans détériorer leur qualité globale ni accroître leur sensibilité à l'oxydation lors d'une conservation à -20°C. Fernandes Santos *et al.* (2019) and De Oliveira *et al.* (2019) ont préparé des émulsions de viande de poulet avec des filets atteints de *White Stripping* ou *Wooden Breast* et la qualité du produit fini type Mortadelle n'était pas altérée.

D'autres études ont plutôt concerné la **qualité sensorielle** (Baéza, 2020). Par exemple, l'ajout de transglutaminase et de caséinate de sodium aux fines tranches de viande de poulet destinées à la production de kebab a accru la cohésion des broches (Kilic, 2003). Concernant la **qualité nutritionnelle** et l'**aptitude à la conservation** des produits transformés, les efforts ont plutôt portés sur la réduction de la teneur en lipides, l'enrichissement en acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 et/ou différents antioxydants (Baéza, 2020). Par exemple, Nieto *et al.* (2017) ont remplacé une partie des graisses animales par de l'huile de noix ou d'olive pour enrichir les saucisses en AGPI et ils ont ajouté de l'hydroxytyrosol pour

limiter le risque d'oxydation pendant leur conservation au froid. Il est aussi possible d'enrichir directement la viande et donc les produits transformés en AGPI n-3 en incorporant dans les aliments pour volailles, de l'huile de lin ou des graines de lin extrudées (Baéza *et al.*, 2013).

Plusieurs études ont testé différentes stratégies pour préserver la **qualité sanitaire** des produits transformés en utilisant des additifs antimicrobiens ou en adaptant les procédures de cuisson et/ou de stockage (Baéza, 2020). Par exemple, Deumier (2006) a montré que le mélange sous vide de cuisses de poulet désossées pendant 1 min avec une solution d'acide lactique à 1 %, lors de la fabrication industrielle de saucisses de poulet fraîches, permettait de diviser par trois le nombre de lots positifs pour la bactérie *Salmonella* sans effet délétère sur la qualité sensorielle des saucisses. Ruiz *et al.* (2010) ont testé les propriétés antimicrobiennes de la nisine (un peptide produit par *Lactococcus lactis*) sur des dés de jambon de dinde inoculés avec *Listeria monocytogenes*, emballés sous vide et stockés pendant 63 jours à +4°C. Dès le premier jour, le traitement avec la nisine (0,2 à 0,5 %) a permis une réduction de 4 log du nombre de *L. monocytogenes* par comparaison avec le témoin non traité. Le nombre de *L. monocytogenes* est resté inférieur à 2 log cfu/g pendant les 63 jours de stockage pour le lot traité avec 0,5% de nisine. La pulvérisation de jambons cuits et tranchés avec *Lactococcus sakei* permet aussi d'inhiber la prolifération de *L. monocytogenes* lors de la conservation au froid sans affecter la qualité sensorielle des produits (Bredholt *et al*., 2001 ; Vermeiren *et al*., 2004).

Les **marinades** sont couramment utilisées pour améliorer les propriétés fonctionnelles et sensorielles de la viande. Les solutions alcalines contiennent du sel et du phosphate et elles servent surtout pour accroître la capacité de rétention de l'eau et le rendement technologique de la viande (Alvarado and Mc Kee, 2007; Vlahova-Vangelova and Dragoev, 2014). Les solutions acides contiennent des acides organiques ou leur sel. Elles améliorent la capacité de rétention de l'eau et la tendreté de la viande. De plus, le pH acide limite la contamination microbienne (Alvarado and Mc Kee, 2007; Vlahova-Vangelova and Dragoev, 2014; Baltic *et al*., 2015). Les marinades peuvent contenir aussi du vin, des épices et/ou des aromates qui ont des propriétés anti-oxydantes et qui peuvent modifier la couleur et la flaveur de la viande mais aussi préserver sa qualité sanitaire et réduire sa sensibilité à l'oxydation (Vlahova-Vangelova and Dragoev, 2014).

Afin de **répondre à certaines attentes des consommateurs**, des études montrent la possibilité de modifier la formulation des produits transformés de volaille. Par exemple, Devatkal *et al.* (2011) et Tasbas *et al.* (2016) ont montré que le remplacement de la farine de blé par 5% de farine de sorgho ou 2% de poudre de lactosérum permettait de fabriquer des nuggets de poulet sans gluten et sans détériorer leur qualité sensorielle. L'incorporation de 0,5% de carragénine lors de la fabrication de nuggets de poulet permet de réduire presque de moitié leur teneur en lipides (Nayak *et al.*, 2015). Schmidt *et al.* (2017) ont diminué les teneurs en NaCl et en gras de saucisses de poulet grâce à l'addition d'un mélange de sels (50% KCl, 25% MgCl2, 25% CaCl2) et de collagène. Enfin, l'industrie de la volaille est confrontée à des pressions croissantes pour maintenir la qualité sanitaire des produits tout en répondant à la demande d'aliments dits « naturels » avec un étiquetage conforme (Grant et Parveen, 2017). Les consommateurs souhaitent que leurs aliments soient peu transformés et contiennent des composés faciles à lire et à reconnaître. Grant et Parveen (2017) ont listés des agents antimicrobiens d'origine végétale qui pourraient être utilisés lors de la transformation et du conditionnement de la viande de volailles, permettant d'accroître la durée de conservation des produits et d'obtenir l'allégation « naturel ». Leur revue s'est focalisée sur les antimicrobiens dérivés de plantes et reconnus sains par l'administration américaine. Il s'agit surtout d'extraits de thym, de romarin, d'ail et d'origan. Alahakoon *et al.* (2015) ont listé les alternatives à l'utilisation des nitrites comme le jus et la poudre de céleri, les extraits de tomates ou d'airelles. Ces composés peuvent être utilisés en combinaison avec des aromates (romarin, thym, sauge et/ou ail) ou avec des acides organiques (lactate, acétate, sorbate, benzoate) pour diminuer la quantité de nitrites à incorporer (Alahakoon *et al*., 2015). Pour remplacer l'acide ascorbique, de nombreuses entreprises utilisent du jus concentré d'acérola riche en ce composé (Prakash et Baskaran, 2018 ; Nexira, 2021).

CONCLUSION

La qualité des produits transformés de volailles dépend surtout des procédés technologiques et des conditions de conservation et cuisson. Toutefois, pour certains produits comme le blanc de poulet, la qualité initiale de la viande joue aussi un rôle important. Or, peu d'études concernent l'effet du système de production (souche de poulet, conditions d'élevage, âge d'abattage …) sur la qualité des produits transformés. La littérature scientifique sur les produits transformés de volailles provient peu des pays occidentaux, suggérant que pour ces pays la recherche et le développement est surtout le fait des entreprises de l'industrie agro-alimentaire qui publient peu afin de préserver leur secret de fabrication et leur avance technologique sur les entreprises concurrentes. L'industrie de la viande confrontée à la diversification des modes de production et à la réduction du nombre d'additifs chimiques utilisés lors des procédés technologiques va devoir s'adapter et innover pour poursuivre le développement de produits de volailles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abd El-Rahman H.A., Soliman S.A., Abd El-Wahab M.M., Ahmed A.M., 2010. Suez Canal Vet. Med. J., XV (1), 111-120.
Agreste, 2020. https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/!searchurl/4e942e5e-c34a-4522-8293-07dbc2f67f50/search/. Accès le 31/03/2021
Alahakoon A.U., Jayasena D.D., Ramachandra S., Jo C., 2015. Trends Food Sci. Technol., 45, 37-49.
Albuquerque T.G., Oliveira M.B.P.P., Sanches-Silva A., Bento A.C., Costa H.S., 2016. Food Function, 7 (6), 2736-2746.
Alvarado C., McKee S., 2007. J. Appl. Poult. Res., 16, 113-120.
Amini Sarteshnizi R., Hosseini H., Mousavi Khaneghah A., Karimi N., 2015. Int. Food Res. J. 22(3), 872-887.
Baéza E., Arnould C., Jlali M., Chartrin P., Gigaud V., Mercerand F., Durand C., Meteau K., Le Bihan-Duval E., Berri C., 2012. J. Anim. Sci., 90, 2003-2013.
Baéza E., Chartrin P., Gigaud V., Tauty S., Méteau K., Lessire M., Berri C., 2013. Brit. Poult. Sci., 54 (2), 190-198.
Baéza E., Bourin M., Berri C., 2018. Viandes et Produits Carnés, 34, 12 p.
Baéza E., 2020. World's Poult. Sci. J., 76 (4), 719-741.
Babji A.S., Chin S.Y., Seri Chempaka M.Y., Alina A.R., 1998. Intern. J. Food Sci. Nutr., 49, 319-326.
Baldi G., Soglia F., Mazzoni M., Sirri F., Canonico L., Babini E., Laghi L., Cavani C., Petracci M., 2018. Anim., 12, 164-173.
Baldi G., Soglia F., Laghi L., Tappi S., Rocculi P., Tavaniello S., Prioriello D., Mucci R., Maiorano G., Petracci M. 2019. Food Res. Internat., 115, 369-376.
Baltić T., Baltić Ž.M., Mišić D., Ivanović J., Janjić J., Bošković M., Dokmanović M., 2015. *Acta Veterinaria-Beograd* 65 (3), 417-428.
Barbut S., 2015. In: The science of poultry and meat processing. www.poultryandmeatprocessing.com, 89 p. Accès le 02/08/2021.
Bartholoma A., Hildebrandt G., Stenzel W.R., Erol I., 1997. Fleischwirtsch, 77, 913-915.
Berri C., Wacrenier N., Millet N., Le Bihan-Duval E., 2001. Poult. Sci., 80 (7), 833-838.
Berri C., Le Bihan-Duval E., Baéza E., Chartrin P., Picgirard L., Jehl N., Quentin M., Picard M., Duclos M.J., 2005. Anim. Res., 54, 123-134.
Berri C., Le Bihan-Duval E., Debut M., Santé-Lhoutellier V., Baéza E., Gigaud V., Jégo Y., Duclos MJ., 2007. J. Anim. Sci., 85 (8), 2005-2011.
Bhosale S.S., Biswas A.K., Sahoo J., Chatli M.K., Sharma D.K., Sikka S.S., 2011. Food Sci. Technol. Internat., 17 (3), 233-237.
Bredholt S., Nesbakken T., Holck A., 2001. Int. J. Food Microbiol., 66, 191-196.
Cavalcante da Rocha T., Moreira de Carvalho L., Janine Soares A., Godoy Coutinho D., Souza Olegario L., de Sousa Galvão M., Estévez M., Suely Madrugaa M., 2020. J. Sci. Food Agric., 100, 2630-2637.
Cavalheiro C.P., Lüdtke F.L., Stefanello F.S., Kubota A.H., Terra N.N., Fries L.L.M., 2014. Food Sci. Technol., 34 (3), 478-484.
CIDEF, 2019. https://www.volaille-francaise.fr/code-des-produits-a-base-de-volailles-2019/code_cidef_2019_inside/. Accès le 17/08/2021.
CIQUAL, 2021. https://ciqual.anses.fr/. Accès le 17/08/2021.
De Oliveira J. R., Teixeira S.T.F., Levandowski R., Dos Santos L.R., Dickel E.L., 2019. Rev. Brasileira Higiene Sanid. Anim., 13(3), 411-417.
De Shazo R.D., Bigler S., Skipworth L.B., 2013. Amer. J. Med., 126, 1018-1019.
Deumier F., 2006. Int. J. Food Sci. Technol., 41(1), 23-32.
Devatkal S.K., Kadam D.M., Naik P.K., Sahoo J., 2011. J. Food Quality, 34, 88-92.
FAO, 2017. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL. Accès le 02/08/2021
Fernandes Santos M.M., Soares de Lima D.A., Alencar Bezerra T.K., De Sousa Galvao M., Suely Madruga M., Pereira da Silva F.A., 2019. J. Food Sci. Technol. 56 (9), 4158-4165.
GEMRCN, 2008. https://www.economie.gouv.fr/files/directions_services/daj/marches_publics/oeap/gem/preparations_de_viandes/preparations_de_viandes.pdf. Accès le 02/08/2021
Gibbs R.A., Rymer C., Givens D.I., 2013. Food Chem., 138 (2-3), 1749-1756.
Gokce R., Akgun A.A., Ergezer H., Akcan T., 2016. Tarim Bilimleri Dergisi J. Agricult. Sci., 22 (3), 331-338.
Grant A., Parveen S., 2017. J. Food Protect., 80 (4), 540-544.
Hercule J., 2019. 13èmes Journées de la Recherche Avicole et des Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 20-21/03/2019, 59-64.
Kayisoglu S., Yilmaz I., Demirci M., Yetim H., 2003. Food Control, 14, 469-474.
Kilic B., 2003. Meat Sci., 63, 417-421.

Kim S.Y., Choi J.H., Choi Y.S., Kim H.Y., Ahn K.I., Kim H.W., Kim T.H., Song D.H., Kim C.J., 2012. Korean J. Food Sci. Anim. Resour., 32 (3), 268-273.
Kuttappan V.A., Lee Y.S., Erf G.F., Meullenet J.F.C., Mac Kee S.R., Owens C.M., 2012. Poult. Sci., 91, 1240-1247.
LGC, 2016. file:///C:/Users/ebaeza/Downloads/KF0113392ENN.en.pdf. Accès le 02/08/2021
Lukman I., Huda N., Ismail N., 2009. Asian J. Food Agro-Industry, 2 (2), 171-180.
Mudalal S., Babini E., Cavani C., Petracci M., 2014. Poult. Sci., 93, 2108-2116.
Mudalal S., Lorenzi M., Soglia F., Cavani C., Petracci M., 2015. Poult. Sci., 93, 2108-2116.
Modi V.K., Mahendrakar N.S., Sachindra N.M., Rao D.N., 2004. J. Muscle Foods, 15, 195-2004.
Nayak N.K., Pathak V., Singh V.P., Goswami M., Bharti S.K., 2015. Livestock Res. Internat., 3 (1), 7-13.
Nieto G., Martinez L., Castillo J., Ros G. 2017. J. .Sci. . Food Agricult., 97 (11), 3761-3771.
Nunes T.P., Trindade M.A., Ortega E.M.M., Castillon C.J.C., 2006. Food Sci. Technol., 26 (4), 841-846.
Ozturk B., Serdaroglu M., 2017. J. Food Sci. Technol. –Mysore, 54 (6), 1384-1394.
Panozzo M., Magro L., Erle I., Ferrarini S., Murari R., Novelli E., Masaro S., 2015. Italian J. of Food Safety, 4, 4535, 92-97.
Petracci M., Mudalal S., Soglia F., Cavani C., 2015. World's Poult. Sci. J., 71, 363-373.
Petracci M., Soglia F., Berri C., 2017. In Poultry Quality Evaluation: Quality attributes and consumer values, Petracci M. et Berri C. Eds, Woodhead Publishing, Duxford, UK, 51-75.
Petracci M., Soglia F., Madruga M., Carvalho L., Ida E., Estevez M., 2019. Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety, 18 (2), 565-583.
Polizer Y.J., Pompeu D., Hirano M.H., Freire M.T., Trindade M.A., 2015. Brazil. J. Food Technol., 18 (1), 62-69.
Prakash A., Baskaran R., 2018. J. Food Sci. Technol., 55 (9), 3373-3384.
Ruiz A., Williams S.K., Djeri N., Hinton A.,Rodrick G.E., 2010. Poult. Sci., 89 (2), 353-358.
Schmidt M.M., Dornelles R.C.P., Vidal A.R., Fontoura A., Kubota E.H., Mello R.O., Kempka A.P., Demiate I.M., 2017. J. Applied Poult. Res., 26 (1), 130-144.
Sharima-Abdullah N., Hassan C.Z., Arifin N., Huda-Faujan N., 2018. Internat. Food Res. J., 25 (3), 1016-1025.
Singh V.P., Pathak V., Bharti S.K., Sharma S., Ojha S., 2016. Nutr. . Food Sci., 46 (3), 432-440.
Sundekilde U.K., Rasmussen M.K., Young J.F., Bertram H.C., 2017. Food Chem., 217, 151-154.
Tasbas H., Osanmaz E., Ozer C.O., Kilic B., 2016. Carpathian J. Food Sci. Technol., 8 (4), 91-102.
Vermeiren L., Devlieghere F., Debevere J., 2004. Int. J. Food Microbiol., 96, 149-164.
Vazgecer B., Ulu H., Oztan A., 2004. Food Control, 15, 264-264.
Vlahova-Vangelova D., Dragoev S., 2014. Bulgarian J. Agricult. Sci., 20 (3), 503-509.
Yilmaz I., Yilmaz B., 2018. J. Sci. Engineering Res., 5 (6), 52-58.
Yogesh K., Ahmad T., Manpreet G., Mangesh K., Das P., 2013. J. Food Sci. Technol., 50 (1), 191-196.
Zhang Y., Wang P., Xu X., Xia T., Li Z., Zhao T., 2020. Poult. Sci., 99 (7), 3742-3751.
Zuidhof M.J., Schneider B.L., Carney V.L., Korver D.R., Robinson F.E., 2014. Poult. Sci., 93 (12), 2970-2982.

Tableau 1. Règlementation française pour la composition du cordon bleu (GEMRCN, 2008)

Taux d'incorporation des différents ingrédients	Caractéristiques des ingrédients
Viande de volaille, 50% minimum	Toute viande de volaille à l'exception de viande séparée mécaniquement, cou et abats HPD 78% max, PCL 14% max, SST 2,5% max
Jambon de volaille, 10% minimum	HPD 78% max, SST 3,5% max, phosphates (exprimés e P_2O_5) 0,5% max
Fromage transformé, 10% minimum	
Panure, 27% maximum	

HPD = Humidité du Produit Dégraissé, PCL = Protéines, Collagène, Lipides, SST = Sucres Solubles Totaux

Tableau 2. Composition chimique de quelques produits transformés de volailles selon la base CIQUAL (2021)

Produits transformés	Composition chimique (%)					
	Eau	Protéines	Lipides	Glucides	Minéraux	Sel
Blanc de poulet	74,3	20,7	1,79	1,39	2,99	1,86
Saucisse de volaille	59,8	16,8	17,7	1,19	1,76	1,75
Cordon Bleu	54,1	14,0	12,2	14,6	2,64	1,73
Nuggets de poulet	48,6	15,6	11,6	19,4	2,06	1,37

Tableau 3. Composition chimique de quelques produits transformés de volailles

Produits transformés	Composition chimique (%)						Auteurs
	Eau	Protéines	Lipides	Glucides	Minéraux	Sel	
Saucisses	68,21	10,63	10,66	7,62	2,88	-	Cavalheiro *et al.* (2014)
Saucisses de Francfort	32,86	7,62	15,21	-	2,30	-	Babji *et al.* (1998)
Döner kebab crû	61,28	19,04	16,23	-	1,94	1,28	Kayisoglu *et al.* (2003)
Döner kebab cooked	47,27	26,17	21,01	-	-	0,99	Vazgecer *et al.* (2004)
Döner kebab	58,0 to 60,4	12,8 to 13,2	8,5 to 8,7	10,1 to 13,8	2,5 to 2,7	1,0 to 1,2	Panozzo *et al.* (2015)
Schnitzel	57,73	14,90	16,26	8,96	2,12	1,70	Yilmaz and Yilmaz (2018)
Cordon Bleu	59,48	15,36	15,61	7,19	2,36	1,76	Yilmaz and Yilmaz (2018)
Nuggets	55,29	14,55	15,24	12,74	2,16	1,71	Yilmaz and Yilmaz (2018)
Nuggets	47,40	17,41	14,32	19,16	2,07	-	Polizer *et al.* (2015)
Nuggets	34,71 to 56,51	12,52 to 16,62	18,14 to 25,00	7,52 to 26,49	1,20 to 1,58	-	Lukman *et al.* (2009)
Nuggets	48,7	31,0	11,6	-	2,3	-	Modi *et al.* (2004)
Nuggets	57,93	9,84	7,50	23,12	1,62	-	Sharima-Abdullah *et al.* (2018)
Nuggets	55,12	12,03	16,09	12,58	1,6	-	Abd El-Rahman *et al.* (2010)
Nuggets	65,67	16,57	8,03	-	2,75	-	Bhosale *et al.* (2011)
	62,82	16,95	9,25	-	3,73	-	
Nuggets	60,8 to 62,4	17,3 to 18,5	10,7 to 15,5	3,1 to 7,3	1,2 to 2,6	0 to 2,5	Yogesh *et al.* (2013)
Nuggets	53,0 to 58,1	12,0 to 18,5	11,6 to 16,8	9,86 to 16,3	1,48 to 2,08	0,87 to 1,26	Albuquerque *et al.* (2016)
Nuggets	53,36	16,64	15,67	-	3,07	-	Para *et al.* (2015)
	52,40	17,50	16,60	-	3,18	-	

SESSION

HYGIENE ET QUALITE

DES PRODUITS

Communication orale

PREDICTION DU TAUX DE FONTE DU FOIE GRAS DE CANARD PAR MESURES NON DESTRUCTIVES

Cordier, G.[1], Zuber, F.[2], Vautier, A.[3], Lhommeau, T.[3], Bourin, M.[4], Bouvarel, I.[4] et Litt, J.[5]

[1] CTCPA, ZAC du Mouliot, 2 allée Dominique Serres, 32000 AUCH
[2] CTCPA, 449 Avenue Clément Ader, 84911 AVIGNON cedex
[3] IFIP, La motte au Vicomte 35651 LE RHEU cedex
[4] ITAVI, INRAe Centre Val de Loire, UMR BOA - Unité 4, 37380 NOUZILLY
[5] ITAVI, Palmipôle, Maison de Agriculture, Cité Galliane, 40005 MONT DE MARSAN cedex
fzuber@ctcpa.org

RÉSUMÉ

La sélection des matières premières foies gras crus, vis-à-vis des destinations de transformation (classement des foies gras) se fait suivant de multiples critères dont le principal est la capacité d'un foie à présenter une fonte limitée pendant le traitement thermique. Le critère principal de tri des foies gras crus est actuellement leur poids, critère qui reste toutefois insuffisant pour opérer un classement prédictif de fonte. Notre projet visait à la mise au point d'outils de mesures physiques rapides non destructives pouvant contribuer à classer les foies gras crus post abattage, puis à la mise au point de modèle permettant une prédiction du taux de fonte. Deux techniques ont été testées : (i) Mesure spectrométrique dans le proche infra-rouge NIRS, par réflectance de surface ; (ii) Mesure spectrométrique par imagerie hyperspectrale. Des corrélations robustes ont été recherchées pour la prédiction de la fonte des foies gras, en relation avec leur itinéraire amont agricole (élevage, gavage) et la mesure spectrométrique par NIRS et imagerie hyperspectrale. La phase de faisabilité achevée montre que les deux technologies sont utilisables pour la prédiction du taux de fonte du foie gras de canard, ce qui apporte la preuve de concept d'un possible tri des foies gras crus, avant ou après prérefroidissement, selon leur taux de fonte prédictif : fortes corrélations en validation externe pour le NIRS (r>0,70) ; fortes corrélations en validation croisée pour l'imagerie hyperspectrale (r>0,70). L'imagerie semble plus adaptée en industrie : fragilité du foie à chaud ; ne nécessite aucun contact direct. Il est nécessaire d'augmenter la robustesse du modèle avec de nouvelles séries de mesures. Ces résultats très encourageants permettent d'envisager une suite avec la construction d'un outil adapté à une utilisation effective sur site industriel. Le Projet PRESTIGE a reçu le soutien de FranceAgriMer - Casdar et du CIFOG.

ABSTRACT

Prediction of duck fatty liver melting rate through nondestructive measurements, for improvement of sensory quality.

Selection of raw Foie Gras (duck fatty liver) according to further transformation is performed using several criteria, the most important being the ability to display reduced melting rate during thermal treatment. Usual criterion for sorting is the weight of the liver; however, it doesn't reflect properly the predictive melting rate. Our projects aimed to design predictive, non-destructive tools, likely to help sorting through prediction of the melting rate of raw Foies Gras after slaughtering. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) and Hyperspectral Image Analysis were tested on whole raw foie gras samples in relationship with their melting behavior. Reliable correlations were observed for the melting prediction with both techniques, indicating the proof of concept for possible assisted sorting of raw foie gras. Strong correlation through external validation was measured for NIRS (r>0,70) ; strong correlation also for hyperspectral imaging (r>0,70). Imaging seems more suitable for industrial sorting, due to liver fragility : measurement is performed contactless. More trials are needed to enhance the robustness of the predictive model. Those encouraging results allow to go further with the construction of an industrial prototype of sorter. The PRESTIGE project received FranceAgriMer – Casdar and CIFOG financial supports

INTRODUCTION

Le classement des matières premières foies gras crus, pour les orienter vers leurs procédés de transformation, se fait suivant de multiples critères dont un majeur qui est l'estimation de la capacité d'un foie à conserver sa graisse et à présenter une fonte limitée pendant l'opération de traitement thermique (cuisson, pasteurisation, stérilisation). En outre, la conformité réglementaire des produits transformés implique un niveau de fonte inférieur à 30%. Les déclassements entraînés par un niveau de fonte supérieur à ce seuil engendrent des pertes financières importantes chez les industriels et transformateurs de foie gras.

Aussi, le taux de fonte influe de façon prépondérante sur la qualité organoleptique du produit transformé : un produit avec un faible taux de fonte lipidique présente une texture plus souple, plus fondante en bouche, non friable ; il est plus savoureux et est préféré des consommateurs. Un faible taux de fonte est donc un des critères majeurs de qualité sensorielle pour le consommateur.

Aujourd'hui, le critère principal de tri retenu par les professionnels est le poids, en relation directe avec l'engraissement du foie (Théron *et al*. 2013). Or le seul critère «poids», jugé peu précis, est toutefois insuffisant pour opérer un classement prédictif du comportement de fonte lors du traitement thermique. Une solution de prédiction plus fiable et précise pouvant être mise à disposition des acteurs de la filière foie gras, est bien identifiée comme un enjeu qualitatif et financier important.

Le projet PRESTIGE mis en œuvre par le CTCPA, l'IFIP et l'ITAVI avait pour objectifs :

(i) La mise au point d'outils de mesures physiques rapides non destructives pouvant contribuer à classer les foies gras crus post abattage,

(ii) La mise au point de modèle permettant une prédiction du comportement technologique lors d'un traitement thermique, c'est-à-dire une estimation du taux de fonte prévisionnel.

Le Projet PRESTIGE a reçu le soutien de FranceAgriMer - Casdar et du CIFOG.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Expérimentations et mesures

Le projet consiste à établir des corrélations prédictives entre : (i) Les résultats de différentes mesures physiques non destructives des foies gras crus de canard, et (ii) Le taux de fonte mesuré expérimentalement sur ces mêmes foies.

Les trois techniques qui ont été sélectionnées pour l'étude sont les suivantes :

1) Mesure non ou peu invasive de conductivité électrique des foies gras (conductimètre portable de laboratoire)

2) Mesure spectrométrique dans le proche l'infra-rouge, par réflectance de surface (Near Infra Red Spectroscopy – NIRS). L'outil utilisé est un spectromètre ASDI Labspec4 (350-2500nm) équipé d'une sonde de réflexion ref. A111206 de 2 cm de diamètre mise en contact du foie sur trois zones (haut, milieu et bas du grand lobe, notées 1, 2 et 3) ; 1 sec. d'acquisition, 10 spectres moyennés par échantillon.

3) Mesure spectrométrique par imagerie hyperspectrale (HSI). L'outil de collecte pour l'imagerie hyperspectrale est un prototype fermé à l'éclairage indirect et équipé de deux caméras hyperspectrales couplées. La mesure se fait sans contact en examinant une ROI (Region Of Interrest) dans l'image. Les mesures non destructives sont réalisées sur place (abattoir), sur chaque foie, avant (32°C) et après (13°C) refroidissement.

Après mesures, les foies gras crus sont transformés en foies gras entiers pasteurisés ou stérilisés suivant un process similaire aux usages industriels (assaisonnement, température, barèmes, etc.). Les prélèvements correspondent à deux carottes de 90g, chacune réalisée dans le grand lobe pour estimer un taux de fonte à 2 températures de cuisson : 80°C et 105°C. S'ensuit un stockage minimum de 2 semaines à +4°C, puis mesure du taux de fonte au démoulage, des foies gras pasteurisés ou stérilisés.

Des expérimentations en 2018 ont permis d'évaluer la faisabilité technique (preuve de concept) d'une estimation du taux de fonte des foies gras par la combinaison de plusieurs mesures non destructives sur le foie gras cru. Les 109 foies gras utilisés étaient issus d'itinéraires amont variés, et préalablement répartis sur le critère de leur poids : [petits < 400g], [moyens 450-550g] et [gros > 600g].

En 2019, la suite des essais avait pour objet d'établir des corrélations robustes pour la prédiction du comportement technologique de 213 foies gras, en relation avec leur itinéraire amont agricole (élevage, gavage) et les mesures non destructives après abattage. Les canards ont alors été élevés et gavés en conditions tracées et contrôlées par l'ITAVI (Palmipôle).

1.2. Construction d'un modèle prédictif

L'exploitation statistique des résultats a été réalisée par l'IFIP : construction de modèles PLS (Partial Least Square) et estimation des performances de prédiction par validation croisée avec le suivi des deux paramètres suivants :

- R^2cv = coefficient de détermination des modèles reliant les valeurs observées et les valeurs prédites par le modèle lors de la validation croisée. Plus le R^2 est élevé, meilleur est le modèle
- RMSEcv = Root Mean Squared Error of cross-validation, qui représente l'erreur de prédiction moyenne du modèle lors de la validation croisée. Plus le RMSE est bas, meilleur est le modèle.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

À l'issue de la campagne de 2018, les résultats des mesures de conductivité électrique n'ont pas été pertinents, après comparaison aux taux de fonte des foies par corrélations en validation croisée.
Autrement dit, la mesure de conductivité, seule, corrélée au taux de fonte ou au poids du foie n'a pas donné d'équation satisfaisante. Cette méthode pourrait éventuellement être couplée à d'autres paramètres afin de parvenir à une corrélation.

Les résultats de la spectrométrie NIRS obtenus en 2018 (Tableaux 1 et 2) ont été plus concluants et ont permis d'obtenir des R^2cv supérieurs à 0,50 avec les taux de fonte. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour le taux de fonte après stérilisation (R^2cv=0,58 versus R^2cv=0,48 pour la pasteurisation).
La précision était équivalente entre les mesures sur les foies à 32°C et 13°C. Enfin, les meilleurs résultats ont systématiquement été obtenus en zone 1 de mesure, dans la partie la plus haute du foie. Ces résultats encourageants ont rendu possible l'organisation des essais en 2019 avec notamment la spectrométrie par HSI.

Les tableaux 3 et 4 présentent les résultats obtenus en 2019. Les résultats de la spectrométrie NIRS mettent en avant la robustesse des modèles NIRS de l'action 2018 en validation externe (croisement avec les données de l'action 2019, corrélation rendement prédit/observé r=0,70).
Cependant, il existe des différences importantes entre les moyennes et les dispersions des taux de fonte entre 2018 et 2019 (moins de variabilité sur 2019) , ce qui nuit à la précision des modèles et peut induire un biais. Ces éléments mettent en évidence l'importance d'inclure une forte variabilité dans la population de calibration.

Tant en pasteurisation qu'en stérilisation, la meilleure précision revient à l'imagerie hyperspectrale sur ce jeu de données. En effet, la calibration présente un modèle mieux ajusté (R^2c supérieur) et une erreur plus faible et la corrélation est supérieure en validation croisée r=0,73 (contre r=0,60, obtenu à la suite de la pasteurisation en zone 1 et avec la méthode NIRS et r=0,62 sur les foies stérilisés, mesures réalisées en zone 1 avec la méthode NIRS).

CONCLUSION

La phase de faisabilité achevée met en lumière l'intérêt de deux des trois méthodes à l'épreuve, à savoir le NIRS et l'imagerie hyperspectrale, pour la prédiction sur matière première crue, du taux de fonte du foie gras de canard pasteurisé ou stérilisé.
Les technologies NIRS (spectrométrie dans le proche l'infra-rouge) et d'imagerie hyperspectrale sont toutes les deux utilisables pour le tri des foies selon leur taux de fonte : Les résultats montrent un pourcentage de la variation de taux de fonte expliqué proche de 70% soient :
- De fortes corrélations en validation externe pour le NIRS (r > 0,70)
- De fortes corrélations en validation croisée pour l'imagerie hyperspectrale (r > 0,70)
Les modèles NIRS et imagerie hyperspectrale montrent, en outre, des similitudes, bien que l'imagerie hyperspectrale présente une précision supérieure à celle du NIRS en validation croisée, probablement du fait de la meilleure représentativité des spectres HSI.

Les résultats (modèles prédictifs obtenus) sont dépendants de la température, aussi un modèle devra être développé pour une température de mesure donnée. Il serait préférable de mesurer à chaud immédiatement après abattage, à 32°C (mesure plus universelle car praticable dans tous les abattoirs).

Finalement, en prenant en compte la fragilité du foie à chaud, l'imagerie hyperspectrale, qui ne nécessite aucun contact direct, semble toutefois plus adaptée en industrie. De plus, cette technique est potentiellement plus précise que le NIRS (à confirmer sur des essais de validation externe) et le développement d'une machine industrielle serait possible sur la base de l'équipement déjà développé par l'IFIP « CSB-jamboflash » - un outil visionique de tri des défauts de structure de la viande de porc.

Aussi, une suite du projet est envisagée :
La conception et la construction d'un prototype industriel en imagerie hyperspectrale pour la prédiction du taux de fonte du foie gras, capable de prédire en ligne à une vitesse de convoyeur de 0,15 m/sec.
En d'autres termes, nous proposons de donner suite à l'étude avec une valorisation à réaliser en partenariat avec plusieurs acteurs, dont l'IFIP pour le développement des modèles de prédiction, un second partenaire pour la conception du logiciel, et un équipementier serait choisi pour concevoir l'outil de collecte selon le cahier des charges rédigé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andrés, S. *et al*. 2007. Meat Science, 76, 509–516.
- Bastianelli D. *et al.* 2009. Journées de la Recherche Avicole.
- Baudonnet, C. 1993. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 182p.
- Cazeils, J. *et al*. 1999. *Lipids*. 34 (9) : 937-942.
- Craigie, C. *et al*. 2017. Meat Science, 132, 19-28.
- Gaitan-Jurado A. *et al*. 2008. Meat Science 78 (2008) 391–399.
- Marie-Etancelin C. *et al*. 2010. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras.
- Marie-Etancelin C. *et al*. 2014. *Genetics Selection Evolution* 2014, 46:38.
- Molette *et al*. 2013, INRA Productions Animales, 26(5) 415-424
- Molette C. *et al*. 2001. Poultry Science: 80(11):1625.
- Sobczak, Estelle. 2003. Information Technique CTCPA n° 215
- Théron L., 2011. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse,
- Théron, L, *et al*. 2013 . Inra Productions Animales, 26(5) : 415-424
- Togersen G. *et al*. 1999. Meat Science 51: 97-102.
- Wold J. *et al*. 2011. Meat Science 89:317–324.

Tableau 1. Résultats du taux de fonte en 2018 après traitement thermique.

Taux de fonte (g/100g)	13/09/2018		14/09/2018	
	TFA	**TFB**	**TFA**	**TFB**
moyenne	15,7	34,7	14,7	32,7
écart type	8,9	11,0	7,9	10,7
Poids foies (g) (et écart-type)	*630,2 (130,7)*		*630,6 (99,4)*	

TFA : pasteurisation à 80°C, Valeur Pasteurisatrice = 40 à 50 minutes à cœur ;
TFB : stérilisation à 105°C, Valeur Stérilisatrice = 0,6 minute à cœur

Tableau 2. Caractéristiques des étalonnages NIRS des taux de fonte obtenus en 2018.

Traitement thermique	**T°C de mesure**	**Site de mesure**	**R^2c**	**R^2cv**	**rmsecv**
Pasteurisation	32°C	S1	0,54	0,48	6,04
Pasteurisation	13°C	S1	0,54	0,47	6,13
Stérilisation	32°C	S1	0,65	0,58	6,95
Stérilisation	13°C	S1	0,63	0,54	7,45
Stérilisation	13°C	S2	0,63	0,52	7,47

Tableau 3. Résultats du taux de fonte en 2019 après traitement thermique.

Taux de fonte (g/100g)	29/03/2019		16/04/2019	
	TFA	**TFB**	**TFA**	**TFB**
moyenne	9,6	10,3	6,6	6,2
Écart type	5,9	6,1	4,6	4,0
Poids foies (g) (et écart-type)	*610,2 (111,7)*		*508,6 (89,9)*	

TFA : pasteurisation à 80°C, Valeur Pasteurisatrice = 40 à 50 minutes à cœur ;
TFB : stérilisation à 105°C, Valeur Stérilisatrice = 0,6 minute à cœur

Tableau 4. Caractéristiques des étalonnages NIRS et HSI des taux de fonte obtenus en 2019.

Traitement thermique	**T°C de mesure**	**Site de mesure**	**R^2c**	**R^2cv**	**rmsecv**
Pasteurisation	32°C	ROI	0,58	0,53	3,83
Pasteurisation	32°C	NIRS S1	0,41	0,36	4,47
Stérilisation	32°C	ROI	0,58	0,53	3,87
Stérilisation	32°C	NIRS S1	0,43	0,38	4,50

IDENTIFICATION DE BIOMARQUEURS PLASMATIQUES ET HĒPATIQUES DE LA QUALITĒ DU FOIE GRAS DE CANARD PAR MĒTABOLOMIQUE

Mozduri Zohre[1], Marty-Gasset Nathalie[2], Lo Bara[2], Masoudi Ali Akbar[1], Morisson Mireille[2], Canlet Cécile[3], Arroyo Julien[4], Bonnet Agnès[2] et Bonnefont Cécile MD[2]

[1]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University - TEHRAN, IRAN,
[2]GenPhySE - Université de Toulouse, INRAE, ENVT - 31326 CASTANET-TOLOSAN
[3]Toxalim - Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-Purpan, UPS - 31027 TOULOUSE
[4]ASSELDOR, Station d'expérimentation appliquée et de démonstration sur l'oie et le canard - La Tour de Glane - 24420 COULAURES
cecile.bonnefont@inrae.fr

RÉSUMÉ
Pour les professionnels de la filière foie gras, les principaux critères de qualité de ce produit sont son poids et son rendement technologique à la cuisson (RTC). Contrairement au poids connu dès l'éviscération du canard, le RTC n'est connu qu'après la cuisson des foies, par pasteurisation ou stérilisation. Or le RTC varie en fonction du poids de foie et du procédé de transformation choisi et impacte la valorisation des produits. Ainsi, l'objectif de l'étude est d'identifier des biomarqueurs corrélés au RTC et qui par conséquent pourraient être utilisés pour prédire le RTC avant la transformation des foies. Pour cela, un lot de 120 canards mulards mâles a été gavé pendant 12 jours (2 fois par jour). Des canards ont été abattus aux jours 6, 8, 10 et 12 (n= 30/abattage) et leur foie a été prélevé. Pour chaque foie, un morceau de 180 g a été mis en verrine afin de déterminer le RTC après pasteurisation et un morceau de 20 g a été congelé. Une heure avant l'abattage, du sang a été prélevé au sinus occipital, et le plasma a été extrait, puis congelé. Des analyses de résonance magnétique du proton (RMN ^{1}H) ont été réalisées sur les échantillons de plasma et sur les extraits hydrophiles des échantillons de foie. Ces analyses ont permis d'identifier 15 biomarqueurs plasmatiques et 13 biomarqueurs hépatiques du RTC, qui sont principalement des acides aminés et des sucres, dont le lactate. Les biomarqueurs identifiés pourraient permettre de prédire le RTC des foies gras. Ils seraient ainsi d'un intérêt majeur pour les acteurs de la filière. Ces biomarqueurs laissent entrevoir des perspectives intéressantes tant au niveau du pilotage des choix in fine des foies gras à transformer qu'au niveau de la sélection génétique des canards et de l'amélioration de l'alimentation des canards en travaillant sur les additifs alimentaires en vue de diminuer la fonte des foies gras à la cuisson.

ABSTRACT
Identification of plasmatic and hepatic biomarkers of "foie gras" quality in duck by metabolomics
For the professionals of "foie gras" production, the main quality criteria of this product are the liver weight and the technological yield after cooking (TYC). Contrary to the liver weight that is easily known after the duck evisceration, the TYC is only known after cooking the livers by pasteurization or sterilization. However, the TYC depends on the liver weight and on the cooking process and strongly impacts the valorization of the products. Thus, the study aims to identify biomarkers correlated to the TYC and that could predict the TYC before cooking the livers. A group of 120 male mule ducks were overfed during 12 days (twice a day). A sub-group of 30 ducks were slaughtered at day 6, day 8, day 10 and day 12. Their liver was taken off. For each liver a slice of 180 g was sampled and cooked by pasteurization in a glass jar to determine the TYC, and a sample of 20 g was frozen. One hour before the slaughtering, blood was collected at the occipital sinus and the plasma was extracted and frozen. Nuclear Magnetic Resonance of the proton (^{1}H-NMR) analyses were performed on the plasma samples and on the hydrophilic extracts of the liver. A total of 15 plasmatic biomarkers and 13 hepatic biomarkers of the TYC were identified that are mainly amino acids and carbohydrates. These biomarkers could help to predict the TYC of the "foie gras". Thus, they could be very useful for the "foie gras" producers. The utilization of these biomarkers might be helpful for optimizing the "foie gras" process, for the duck selection and for improving the feed additives in duck nutrition to reduce the melting rate at cooking of "foie gras".

INTRODUCTION

Le foie gras est un produit festif dont la valorisation dépend principalement de l'aspect visuel des foies, de leur poids et de leur rendement technologique à la cuisson (RTC). Contrairement aux deux premiers critères de qualité qui sont facilement mesurables, le RTC n'est déterminé qu'après la cuisson des foies. Ainsi un intérêt primordial pour les acteurs de la filière est d'être capable de prédire le RTC avant la transformation des foies. Des études précédentes ont montré que le RTC est corrélé à la consommation des canards en gavage, au poids de leur foie, à leur teneur en lipides, en protéines et à l'activité de certaines caspases (Marie-Etancelin et al., 2011 ; Théron et al., 2012 ; Rémignon et al., 2018 ; Bonnefont et al., 2019).

L'étude présentée ici s'inscrit dans ce contexte en ayant pour objectif d'identifier des biomarqueurs du RTC, *i.e.* des molécules fortement corrélées au RTC. Des biomarqueurs ont été recherchés dans le foie ainsi que dans le plasma car celui-ci représente un fluide disponible de façon peu invasive et qui représente donc des perspectives intéressantes pour l'utilisation des biomarqueurs identifiés.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Protocole expérimental et prélèvements

Un lot de 120 canards mulards mâles (Grimaud, lignée H95) a été élevé et gavé à la Station d'Expérimentation appliquée et de démonstration sur l'oie et le canard en 2015 (Coulaures, Dordogne, France) avec l'autorisation d'expérimentation A24-137-1 (Lo et al., 2017). Des groupes de 30 canards ont été abattus tous les 2 jours du 11^{e} repas (jour 6, J6) jusqu'au 23^{e} repas (jour 12, J12), après 11 h de jeûne. Après éviscération, un morceau de 180 g de chaque foie a été mis en verrine afin de déterminer le RTC après pasteurisation (valeur de pasteurisation = 170 min) et un morceau de 20 g a été congelé dans de l'azote liquide, puis conservé à -80°C. Une heure avant l'abattage, du sang a été prélevé au sinus occipital, et le plasma a été extrait par centrifugation (à 3 400 g à 4°C, pendant 10 min), avant d'être congelé à -80°C.

Pour caractériser les foies, les teneurs en matière sèche (MS), en lipides totaux (méthode adaptée de Folch et al., 1957) et en matières azotées totales (MAT, réalisée avec un analyseur LECO) ont été mesurées.

1.2. Recherche de biomarqueurs plasmatiques et hépatiques par RMN du proton

Des analyses des foies et des plasmas ont été réalisées par résonnance magnétique du proton (RMN-^{1}H) à la plateforme AXIOM (INRAe, Toulouse). Les méthodes précises sont décrites dans Mozduri et al. (2021a ; 2021b). Pour les échantillons de foie, les métabolites hydrophiles ont été extraits par une méthode adaptée de Beckonert et al. (2007). Pour les échantillons de plasma, les protéines et les lipides ont été précipités par une méthode adaptée de Nagana Gowda et al. (2015) afin d'extraire les métabolites hydrophiles. Les échantillons ont été préparés dans un solvant D_2O contenant du sodium trimethylsilyl propionate, (TSP), qui est un standard interne ayant un pic à 0 ppm. Les spectres RMN-^{1}H ont été acquis sur un spectromètre Bruker (Avance III HD, Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany). Afin d'optimiser les acquisitions des spectres RMN-^{1}H, deux méthodes ont été utilisées : la méthode NOESYPR1D pour les échantillons de foie et la méthode NOESY pour ceux de plasma.

Après traitement des spectres (transformation de Fourrier, phasage, correction de la ligne de base et déplacement du spectre pour calibrer le pic du TSP à 0 ppm), deux méthodes d'analyse des spectres ont été utilisées pour les données plasmatiques et hépatiques :

- une méthode d'analyse en « buckets » avec la plateforme Workflow4Metabolomics 3.3 (Tremblay-Francois et al., 2014) qui consiste à découper le spectre RMN-^{1}H en petits segments de largeur 0,01 ppm et à intégrer l'aire sous la courbe de ces segments.
- une méthode d'analyse des métabolites présents dans un mélange complexe proposée dans le package ASICS de R (Lefort et al., 2019) qui consiste à considérer le spectre d'un mélange complexe comme la juxtaposition de spectres de métabolites simples présents dans une base de référence de 176 métabolites (Tardivel et al., 2017). Ainsi les données obtenues correspondent à un tableau avec en ligne les individus et en colonne les intensités des métabolites présents dans les échantillons.

Enfin des analyses statistiques multivariées (partial least square PLS) ont été réalisées afin d'identifier les buckets ou les métabolites associés avec le RTC avec le logiciel SIMCA P+ (v12, Umetrics, Umea, Suède). La PLS est une méthode qui permet de représenter des individus (ici les canards) définis par de nombreuses variables (ici 758 buckets ou 43 métabolites selon la méthode d'analyse) dans un espace de dimension réduit, dont les axes sont des combinaisons linéaires des variables initiales et qui permet de maximiser la covariance entre la variable à expliquer (ici le RTC) et les nouveaux axes. En projetant une échelle de couleur correspondant à la variable à expliquer (ici RTC) sur le graphique des individus, on peut facilement identifier les axes qui permettent d'expliquer cette variable. Ensuite on étudie les métabolites dont la contribution à cet axe est importante grâce au critère VIP (variable importance in projection, VIP > 1). Pour valider ces analyses multivariées, des analyses de variance ont été réalisées pour identifier les buckets et les métabolites ayant un effet significatif sur le RTC (P-Valeur corrigée avec la procédure de Benjamini-Hochberg <

0,05) avec le logiciel R (v. version 4.0.2). Les métabolites associés aux buckets significatifs ont été identifiés avec la base de données Human Metabolome Database (Wishart et al., 2009).
Des corrélations de Pearson ont été calculées entre chaque métabolite significatif et le RTC. Pour un métabolite, lorsque les corrélations entre son intensité et le RTC étaient significatives pour les deux méthodes, seuls les résultats de la méthode « métabolite » ont été présentés.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'évolution des performances zootechniques des canards au cours du gavage a déjà fait l'objet d'une présentation (Lo et al., 2017). En particulier, le poids de foie a été multiplié par 2,2 entre J6 (343 ± 39 g) et J12 (758 ± 106 g, P < 0,001, Fig. 1), alors que le RTC a diminué de 98 ± 1 % à J6 à 72 ± 11 % à J12 (Fig. 1).

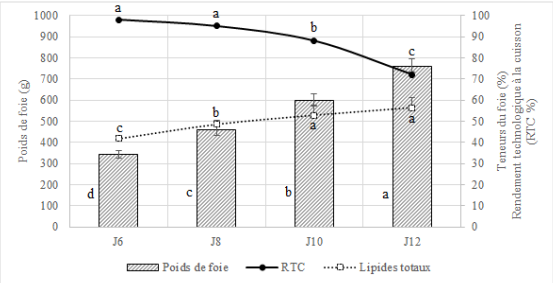


Figure 1. Caractéristiques du foie au cours du gavage (d'après Lo et al., 2017)

Dans cette étude métabolomique, quatre analyses PLS ont été réalisées : deux avec la méthode « buckets » pour les données plasmatiques et hépatiques et deux avec la méthode « métabolites » pour les données plasmatiques et hépatiques. Seul le graphique des individus de la PLS du RTC avec les données hépatiques et la méthode « métabolites » est présenté dans cet article (Fig. 2).
Dans cette étude métabolomique, le premier axe du graphique des individus de la PLS (axe vertical sur la Fig. 2) permet de séparer les animaux en fonction de leur RTC : du rouge pour les individus avec des RTC très élevés jusqu'au vert puis bleu pour des individus avec des RTC plus faibles.
Les métabolites identifiés comme biomarqueurs du RTC dans le plasma et dans le foie sont présentés dans le Tableau 1.
Au total, 17 molécules impliquées dans le métabolisme des acides aminés sont identifiées comme biomarqueurs du RTC. A l'exception de la thréonine hépatique, ils sont tous corrélés positivement avec le RTC (Tab. 1). Le RTC étant corrélé négativement au poids du foie, la quantité d'acides aminés libres est plus élevée dans les foies présentant des poids faibles et des RTC élevés. Ces résultats qui présentent des modifications du métabolisme des acides aminés associées à la stéatose hépatique ont déjà été montrées chez des canards gavés (Théron et al. 2012, François et al., 2014 ; Lo et al., 2020) et chez d'autres animaux modèles pour la stéatose hépatique comme des souris obèses (Du et al., 2012 ; Bruckbauer et Zemel, 2014).
Les acides aminés libres sont le résultat de l'anabolisme ou du catabolisme des protéines, ainsi leur interprétation n'est pas aisée. Une hypothèse pour expliquer la plus faible quantité d'acides aminés libres dans les foies de poids élevés est que les hépatocytes sont plus gros (Théron et al. 2011), ainsi les acides aminés seraient davantage utilisés pour assurer la synthèse des protéines constitutives des membranes cellulaires et des enzymes impliquées dans la lipogenèse et l'oxydation des acides gras, enzymes dont le turnover au cours du gavage est très important.

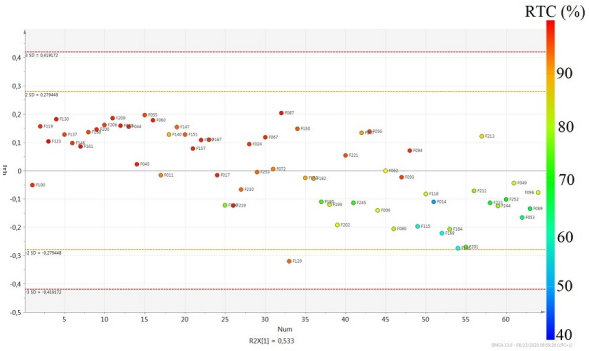


Figure 2. Représentation des individus de la PLS du RTC avec les données hépatiques et la méthode « métabolites »

De plus, six molécules glucidiques sont détectées comme biomarqueurs du RTC. Le lactate est le biomarqueur le plus important (VIP maximal) à la fois dans le plasma et dans le foie. Il est négativement corrélé au RTC, ainsi il est présent en plus grande quantité, quand le RTC diminue. Le lactate avait déjà été identifié comme discriminant dans les foies de deux groupes canards avec des RTC faibles et élevés (Bonnefont et al., 2014). Le lactate dans le plasma et le sang total chez l'homme (Kalhan et al., 2011 ; Lin et al., 2020) et dans le sérum chez la souris (Li et al., 2011) a également déjà été identifié comme biomarqueur positivement corrélé à la stéatose hépatique. L'augmentation du lactate suggère une dégradation accrue du glycogène dans les foies de poids élevés qui réalisent ainsi plus de glycolyse anaérobie. D'après McGarry et al. (2018), dans un environnement hypoxique, on constate une augmentation de l'activité glycolytique associée à une augmentation de la quantité de lactate. Ces résultats suggèrent donc qu'une augmentation du lactate est le signe d'une réorganisation du métabolisme énergétique cellulaire vers la glycolyse anaérobie qui est l'un des signes d'une hypoxie cellulaire. Les foies avec un RTC faible sont plus soumis à ce phénomène d'hypoxie et donc corrélés négativement à la quantité de glycogène et positivement à celle du lactate.

CONCLUSION

Cette étude a permis d'identifier des biomarqueurs hépatiques et plasmatiques du rendement technologique après la cuisson des foies gras. Des études complémentaires avec de nouveaux animaux sont requises pour vérifier si ces biomarqueurs permettraient de prédire le RTC. Cette étude est une première étape dans la recherche de biomarqueurs mais d'ores et déjà, elle laisse entrevoir des perspectives intéressantes aussi bien pour pouvoir affiner le choix des foies gras à transformer, que pour d'éventuelles études de sélection génétique de souche de canards ; voire également pour optimiser l'alimentation des canards en travaillant sur des additifs alimentaires protéiques et/ou glucidiques en vue de diminuer la fonte des foies gras à la cuisson.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Beckonert et al. 2007. Protoc. (2), 2692–2703.
Bonnefont et al. 2014. Poult. Sci. (93) :1542–1552. doi : 10.3382/ps.2013-03546
Bonnefont et al. 2019. Poult. Sci. (0),1–10. doi : 10.3382/ps/pez359
Bruckbauer et al. 2014. PLoS One (9), e89166. doi: 10.1371/journal.pone.0089166
Du et al. 2012. Amino Acids (43), 725–734. doi: 10.1007/s00726-011-1123-8
Folch et al. 1957. J. Biol. Chem. (226), 497−509.
François et al. 2014. J. Agric. Food Chem. (62), 7140–7150. doi: 10.1021/jf5006963
Kalhan et al. 2011. Metabolism (60), 404–413. doi: 10.1016/j.metabol.2010.03.006
Lefort et al. 2019. Bioinformatics (35), 4356–4363. doi: 10.1093/bioinformatics/btz248
Li et al. 2011. J. Proteome Res. (10), 2797–2806. doi: 10.1021/pr200047c
Lin et al. 2020. Biochem. Biophys. Res. Commun. (529), 1101–1105. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.06.126
Lo et al. 2017. 12e JRA-FG, 05 et 06 avril 2017
Lo et al. 2020. Front. Physiol. (11), 569329. doi : 10.3389/fphys.2020.569329
Marie-Etancelin et al. 2011. J. Anim. Sci. (89), 669-679. doi: 10.2527/jas.2010-3091
McGarry, et al. 2018. Free Radical Biol. and Med. (125) 15–24. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042
Mozduri et al. 2021a. Front. Physiol. (12), 628264. doi: 10.3389/fphys.2021.628264
Mozduri et al. 2021b Front. Physiol. (12), 694809. doi: 10.3389/fphys.2021.694809
Nagana Gowda et al. 2015. Anal. Chem. (87), 706–715. doi: 10.1021/ac503651e
Rémignon et al. 2018. Poult. Sci. (97), 2211–2217 doi : 10.3382/ps/pey054
Tardivel et al. 2017. Metabolomics (13), 109. doi: 10.1007/s11306-017-1244-5
Théron et al. 2011. Meat Sci. (89), 377-383. doi: 10.1016/j.meatsci.2011.04.018
Théron et al. 2012. J. Anim. Sci. (90), 3312-3317. doi: 10.2527/jas.2011-4945
Tremblay-Franco et al. 2014. Bioinformatics (31), 1493–1495. doi: 10.1093/bioinformatics/btu813
Wishart et al. 2009. Acids Res. (37), D603–D610. doi: 10.1093/nar/gkn810

Tableau 1. Liste des biomarqueurs plasmatiques et hépatiques du rendement technologique à la cuisson (RTC)

	Biomarqueurs plasmatiques			Biomarqueurs hépatiques		
	Valeur de P	Corrélation avec RTC	Méthode d'analyse[1]	Valeur de P	Corrélation avec RTC	Méthode d'analyse[1]
Acides aminés						
Alanine	0,08	0,85	B et M	< 0,01	0,81	M
Arginine	0,04	0,73	B			
Glutamate				0,01	0,93	B
Glutamine	0,04	0,68	B et M			
Glycine	0,01	0,91	M			
Guanidinoacétate				< 0,01	0,86	M
Isoleucine	< 0,01	0,58	B			
Isosuccinate$^{\alpha}$	< 0,01	0,55	B			
Isovalérate	< 0,01	0,62	B			
Leucine	< 0,01	0,86	M			
Lysine	0,07	0,81	B			
Proline	< 0,01	0,91	M			
Pyroglutamate	< 0,01	0,61	B			
Serine	0,04	0,85	M			
Taurine				< 0,01	0,82	M
Thréonine				< 0,01	-0,95	M
Valine	0,01	0,87	M			
Glucides						
Acide glycérique				< 0,01	0,9	B
Glucose				< 0,01	0,94	B et M
Glycérol	< 0,01	0,83	B			
Glycogène				0,01	0,98	B
Lactate	0,05	-0,42	B et M	< 0,01	-0,97	B et M
Maltose				< 0,01	0,9	B
Autres molécules organiques						
Allantoïne				< 0,01	0,75	B
Créatine				< 0,01	-0,57	B
Ethanolamine				< 0,01	0,95	B

[1] La méthode d'analyse correspond soit à la méthode « Bucket » nommée « B », soit à la méthode « Métabolite » nommée « M ». Lorsqu'un métabolite est identifié par les 2 méthodes, seules les données de la méthode « M » sont présentées.

DETECTION DES FOIES GRAS DE CANARD AYANT SUBI UN PROCESSUS DE CONGELATION-DECONGELATION

BOURIN Marie[1], VAUTIER Antoine[2], RONDEAU-MOURO Corinne[3], HALGRAIN Maeva[4], COLLEWET Guylaine[3], AUBRY Laurent[5], THERON Laetitia[5]

[1]ITAVI, Domaine de l'Orfrasiere, 37380 Nouzilly, France `
[2]IFIP, La motte au Vicomte 35651 Le Rheu cedex, 35651 Le Rheu Cedex, France
[3]INRAE, UR OPAALE, 17 Av. de Cucillé, CS 64427, 35044 Rennes Cedex, France
[4]INRAE, Domaine de l'Orfrasiere, 37380 Nouzilly, France `
[5]INRAE, Centre de recherche Clermont-Auvergne-Rhone-Alpes, 63122 St Genes Champanelle, France
bourin@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

La vente de foies gras de canards frais est essentiellement concentrée sur la période des fêtes de fin d'année, créant un déséquilibre entre la demande des consommateurs français et la disponibilité du produit. Certains acteurs du marché français sont alors tentés de congeler les foies gras de canards pour les vendre en frais, pratique interdite par la règlementation française et européenne. Les abatteurs souhaiteraient pouvoir qualifier les produits vendus en frais, afin de s'assurer qu'ils sont bien conformes à la réglementation. Dans notre étude, 5 méthodes ont été testées : mesure de l'oxydation des produits, empreintes par spectrométrie de masse MALDI-TOF, spectroscopie en proche infrarouge (NIRS), Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), IRM et conductivité. Parmi ces méthodes, deux ont donné des résultats très prometteurs : les empreintes MALDI-TOF et le NIRS. Lors de la première phase du projet, sur des foies provenant d'un même lot et calibrés en poids, les empreintes MALDI-TOF arrivaient à bien classer les foies avec des pourcentages de validation interne et de capacité de reconnaissance compris entre 93% et 100%. De même, la méthode NIRS a montré qu'il était possible de mettre au point des calibrations avec des coefficients de détermination des modèles de calibration (R^2c) de 0.82, et de validation croisée (R^2cv) de 0,80. Lors de la seconde phase du projet, de la variabilité a été intégrée dans la provenance des foies afin de disposer d'un modèle spécifique de la congélation/décongélation et utilisable sur des foies tout-venants. La méthode MALDI-TOF a permis de reconnaître les foies gras congelés, mais avec des erreurs de classification, et trop de variabilité pour pouvoir valider le modèle de la première phase. Concernant le NIRS, la validation externe révèle également un niveau d'erreur de classification trop important. Toutefois, des essais de calibration/validation externe réalisées sur la seconde base de données, plus variable, montrent des résultats encourageants : R^2p de 0,67 à 0,86 avec 31 à 2% d'erreur, très majoritairement faux négatifs. Une phase de validation de ces deux méthodes sur un pool plus important de foies gras, provenant de différents itinéraires techniques semble nécessaire pour avoir des équations de prédiction robustes et fiables.

ABSTRACT

Identification of duck fat livers that have been freeze-thrown

The sale of fresh duck foie gras is mainly concentrated during the festive season, creating an imbalance between the demand of French consumers and the availability of the product. Some French market stakeholders are therefore tempted to freeze duck foie gras to sell it fresh, a practice prohibited by French and European regulations. Slaughterers would like to be able to qualify this type of products, to ensure that they comply with the regulations. In our study, 5 methods were tested: oxidation measurement, fingerprinting by MALDI-TOF mass spectrometry, near infrared spectroscopy (NIRS), Nuclear Magnetic Resonance (NMR), MRI and conductivity. Of these methods, two have shown very promising results: MALDI-TOF fingerprinting and NIRS. In the first phase of the project, on livers from the same batch and calibrated by weight, MALDI-TOF fingerprints were able to classify the livers well with internal validation and recognition capacity percentages between 93% and 100%. Similarly, the NIRS method showed that it was possible to develop calibrations with calibration model determination coefficients (R^2c) of 0.82, and cross-validation coefficients (R^2cv) of 0.80. In the second phase of the project, variability was incorporated in the origin of the livers in order to have a model specific to freezing/thawing and usable on all-origin livers. The MALDI-TOF method was able to recognise frozen fatty livers, but with many misclassifications, and too much variability to validate the first phase model. Regarding NIRS, the external validation revealed, as for MALDI-TOF, a level of classification error that was too high. However, external calibration/validation tests carried out on the second database, which is more variable, show encouraging results: R^2p of 0.67 to 0.86 with 31 to 2% error, mostly false negative. A validation phase of these two methods on a larger pool of foie gras, coming from different technical itineraries seems necessary to have robust and reliable prediction equations.

INTRODUCTION

La vente de foies gras de canards frais est essentiellement concentrée sur la période des fêtes de fin d'année, ce qui conduit à ce moment-là à un déséquilibre entre la demande des consommateurs français et la disponibilité du produit. Certains acteurs du marché français sont alors tentés de congeler les foies gras de canards pour les vendre en frais au moment des fêtes de fin d'année, ce qui est une pratique interdite (règlement UE n° 1308/2013). En effet, la viande de volaille et les préparations à base de viande de volaille ne sont commercialisables qu'à l'état frais, congelé, surgelé. La commercialisation des foies de volaille décongelés n'est donc pas autorisée en France et en Europe.

Il n'est pour l'instant pas possible d'identifier ces foies gras décongelés, alors que pouvoir qualifier les produits vendus en frais sur le marché français permettrait de s'assurer qu'ils sont bien conformes à la réglementation, surtout sur la période des fêtes de fin d'année, afin d'éviter la concurrence déloyale en régulant le marché.

De plus, le consommateur ne peut pas détecter un foie gras de canard décongelé à l'œil nu et il est nécessaire pour sa protection de disposer d'une méthode permettant d'attester qu'il s'agit bien d'un produit frais.

La mise au point d'outils analytiques fiables et objectifs, pouvant permettre de discriminer des produits ayant subi une étape de congélation / décongélation, avant leur commercialisation en réfrigéré, pourrait permettre d'éviter des pratiques frauduleuses et contribuerait à assurer une plus grande loyauté des transactions commerciales. Au cours de ce projet, 5 méthodes ont été testées (mesure de l'oxydation des produits, empreintes par spectrométrie de masse MALDI-TOF, spectroscopie en proche infrarouge (NIRS, Near Infra Red Spectroscopy), Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), IRM et conductivité). Sur les 5 méthodes, 2 ont donné des résultats prometteurs : les empreintes par spectrométrie de masse MALDI-TOF et la spectroscopie en proche infrarouge (NIRS), et sont donc les seules méthodes pour lesquelles les résultats sont présentés.

La spectrométrie de masse MALDI-TOF des protéines est, depuis quelques années, devenue la méthode de référence pour l'identification des bactéries en hôpitaux (Nomura, 2015). Le spectre des protéines extraites d'une bactérie (ou empreinte spectrale) est comparé à une base de données et un score statistique est donné par le système permettant de valider ou non l'identification. Très récemment, des études ont également montré sa pertinence pour le contrôle de la durée de conservation de la truite par la création d'un outil de prédiction (Ulrich et al., 2017). La discrimination des temps de conservation (0, 3, 7, 9 et 11 jours) a été réalisée avec un score de classification supérieur à 90%. De plus, cette méthode spectrale a été utilisée pour la création d'une base de données de 54 espèces de poisson, pour le contrôle de l'adultération dans la filière piscicole (Stahl et al., 2017).

La spectroscopie proche infrarouge (NIRS) est une technique rapide et non-invasive de prédiction de la composition chimique des produits agroalimentaires. La spectroscopie proche infrarouge est utilisée avec succès depuis de nombreuses années sur la matrice viande, pour la prédiction de la composition chimique et ce pour plusieurs espèces : la teneur en lipides intramusculaires est prédite avec des modèles à fort ajustement pour la viande de porc (R^2=0.84, Liao et al., 2010), agneau (R^2=0,84, Andres et al., 2007), bovin (R^2=0,99, De Marchi et al., 2007), canard (R^2=0,84, Bastianelli et al., 2009) et poulet (R^2=0,83, Chartrin et al., 2010). Sur des matrices plus riches en lipides et dont la composition est plus proche de celle du foie gras frais telles que les mélanges gras/maigre ou les saucisses, les modèles de prédiction NIRS révèlent également un niveau de précision élevé avec la teneur en lipides (R^2=0,83 et 0,99, Togersen et al., 1999 et Gaitan et al., 2008, respectivement). Les données disponibles sur la prédiction spécifique de la composition chimique du foie gras frais sont plus rares, mais elles mettent en évidence des résultats prometteurs, notamment pour le taux de lipides (R^2c=0,81 à 0,89 ; Marie-Etancelin et al., 2010 ; Molette et al., 2001). Par ailleurs, la NIRS a permis de reconnaitre 95 à 98 % des steaks de bœuf ayant été congelés puis décongelés (Thyholt and Isaksson, 1998). La même technique appliquée au poisson a permis à Uddin et Okasaki (2004) de discriminer sans erreur des maquereaux frais de maquereaux ayant été congelés puis décongelés.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Préparation des foies

Lors de la première phase de l'étude, les mesures et prélèvement ont été réalisés sur les mêmes foies (n=100) coupés en deux (coupe sagittale) et dont les deux parties étaient affectées alternativement à une mesure sur foie frais le jour de l'abattage (J0) puis après 2 semaines de conservation à 5°c (J14), ou à une mesure sur foies congelés pendant 6 mois et décongelés (M6), puis à une mesure supplémentaire après 2 semaines de conservation à 5°c (M6+J14).

Lors de la seconde phase de l'étude, plusieurs modalités ont été intégrées afin d'augmenter les sources de variabilité non spécifique du procédé de congélation/décongélation et se rapprocher de la réalité terrain (Tableau 1):

- l'individu : le traitement congélation / décongélation est ici appliqué à une population différente du témoin.
- le poids : 3 gammes de foies (<500g, 500-600g, >600g)
- la température de conservation du foie en frais : 3 températures (4°c, 0°c et 8°c)

- la durée de conservation en frais : 3 modalités (0 jour, 7 jours, 14 jours)
- la durée de congélation : 2 durées (6 mois et 3 mois)
- l'abattoir de provenance : 3 abattoirs

1.2. MALDI-TOF

La préparation des échantillons en amont de l'analyse par MALDI-TOF a été optimisée de la méthode publiée par Théron et al. (2020).
La dernière étape a porté sur les analyses statistiques par chimiométrie des données spectrales de protéines en MALDI-TOF avec le logiciel ClinProTools. Tout d'abord, les paramètres de détermination de la liste de pics ont été optimisés (rapport signal sur bruit de fond de 3, algorithme de lissage des spectres Savitzy-Golay). Afin de pouvoir classifier les foies, un modèle de prédiction a été construit sur la base de l'algorithme de réseau de neurones. Pour cela, une approche par validation interne, dite cross-validation, a été mise en œuvre : 80% des données sont utilisées pour construire le modèle et les 20% restantes pour le valider, c'est-à-dire sont classées en utilisant le modèle. Ces données sont sélectionnées de façon aléatoire par le logiciel et l'opération est répétée 10 fois pour être le plus complet et représentatif possible. Le réseau de neurones s'est montré le plus pertinent pour discriminer les foies gras selon le mode de conservation / congélation. Le modèle créé a été validé en interne par cross-validation et en externe avec un nouveau jeu de données.

1.3. Spectrométrie dans le proche infrarouge

Le matériel utilisé consistait en un spectromètre Labspec4 ASDI (350-2500 nm) équipé de sa sonde de contact (fenêtre de 2cm de diamètre). La résolution spectrale est de 3nm dans la gamme 350-1000nm et de 10 nm dans la gamme 1000-2500nm Le temps d'intégration a été fixé à 10 msec et chaque spectre est constitué de la moyenne de 10 répétitions, ce qui totalise une mesure d'une seconde par échantillon. Les spectres sont exprimés en indice de réflexion.
Les calibrations ont été réalisés à l'aide du logiciel Matlab et de la toolbox Eigenvector et de la procédure d'analyse discriminante PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis). La détermination des modèles de prédiction a été effectuée par le suivi de l'erreur de validation croisée en fonction du nombre de facteurs PLS inclus dans le modèle (20 tirages aléatoires). Les performances des modèles ont ensuite été évaluées par l'erreur de prédiction obtenue sur un jeu de donnée de validation externe. Pour calculer le R^2, la valeur numérique de la classe (0 ou 1) a été prise en compte, ce qui permet de donner toutefois un point de comparaison entre le niveau d'ajustement de plusieurs modèles. Le critère de performance le plus important reste le pourcentage de foies bien classés d'après la probabilité d'appartenir à une classe fournie par le modèle.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. MALDI TOF

Les 600 spectres individuels de protéines acquis dans le cadre du volet 1 sont représentés dans la figure suivante 1.

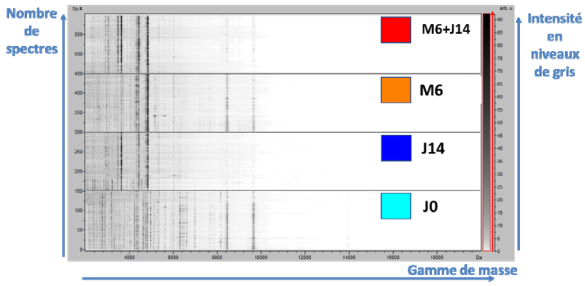


Figure 1 : Visualisation des spectres MALDI TOF obtenus sur les foies analysés lors de la phase 1

La visualisation sous forme de gel permet de montrer la variabilité inter et intra-individuelle. Cette représentation montre que certaines différences sont présentes entre les 4 conditions avec la présence de pics (représentés par les barres verticales dans la figure 1) uniquement dans les conditions sans conservation à 4°C par exemple. La mise en œuvre des statistiques permet de déterminer si ces différences sont significatives.
Les résultats obtenus sont évalués grâce à la capacité de reconnaissance donnée par le logiciel. Il s'agit de l'évaluation de la capacité du modèle à classer de nouvelles données sur la base du jeu de données d'entrée.
Les résultats sont donnés par classe dans la figure 2.

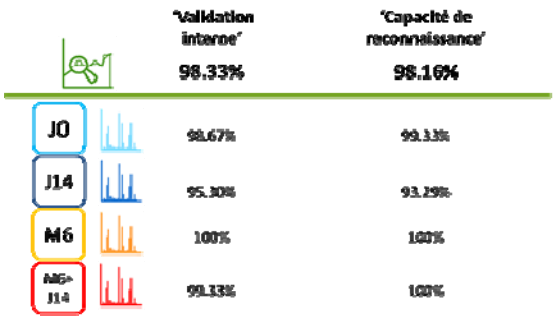


Figure 2 : Classement des foies issus de la phase 1 par les empreintes MALDI TOF

Dans le cas des empreintes de foies gras, les résultats se sont montrés très positifs et homogènes entre classes avec des pourcentages de validation interne et de capacité de reconnaissance compris en 93% et 100%.
Ce résultat de capacité de prédiction de la congélation et conservation des foies gras est basé sur l'intensité de 24 pics sur toute la gamme de masse analysée. Les intensités de ces 24 pics, pondérées par le facteur « Weight » déterminé par l'algorithme de calcul, forment l'équation de prédiction de l'appartenance aux 4 classes.

Lors de la seconde phase du projet, l'accent a été mis sur la prise en compte de la variabilité des conditions potentiellement rencontrée sur le terrain.
Pour cette seconde phase, il a été décidé de regrouper les différentes conditions, en regroupant les foies quelle que soit leur gamme de poids et quel que soit l'atelier dans lequel ils ont été prélevés puisque cela ne devrait pas être l'information prépondérante d'une bonne méthode de classification utilisable sur le terrain
Cette approche est plus simple à appréhender puisqu'elle ne porte que sur les 4 classes décrites dans la phase 1, à savoir J0, J14, M6 et M6+J14.
Les résultats de classification en regroupant les conditions de la phase 2 sont représentés dans la figure 4.

	J0	J14	M6	M6+J14
Foies gras frais	1	36	97	4
Foies gras frais conservés	60	58	197	1
Foies gras surgelés	12	33	165	1
Foies gras surgelés conservés	55	176	33	77

Figure 4 : Classification des foies de la phase 2

La diagonale représentée par les encadrés correspond au résultat attendu. Le classement selon les 4 classes confirme les résultats détaillés pour chaque condition : les foies gras congelés sont relativement bien reconnus par le modèle. Néanmoins, il y a trop de mauvaises classifications, et trop de variabilité pour pouvoir valider le modèle créé avec les données d'empreintes spectrales de protéines des foies gras de la phase 1.
Il apparait que le modèle présente un « sur-apprentissage », il est très spécifique des conditions de la phase 1, trop spécifique pour pouvoir être utilisé pour classifier des empreintes spectrales acquises lors d'expérimentations complémentaires. Lorsqu'il est confronté à des données plus réalistes, il perd de la puissance de classification.

2.2. Spectroscopie proche infra rouge

Lors de la phase 1 du projet, les calibrations PLS-DA (analyse discriminante) basées sur les modifications de signatures spectrales dans le visible et dans le proche infrarouge ont révélé de bonnes performances de classification entre les demi-foies frais (J0 et 14) et les demi foies congelés/décongelés (M6 et M6+J14) : les coefficients de détermination étaient d'un bon niveau en calibration (R^2c=0,82) et stables en validation croisée (R^2cv=0,80) alors que l'erreur de validation croisée se situait à 2%.
Toutefois, des essais de calibrations ont été testés sur des sous-populations afin d'estimer la robustesse/spécificité des calibrations : un modèle a notamment été mis au point sur les lots mesurés à J14 et M6+J14 puis une validation externe de ce modèle a été mise en œuvre sur les lots mesurés à J0 et J14 et M6 (congelés/décongelés). Les résultats étaient dans ce cas décevants avec une très forte baisse du coefficient de détermination en validation externe (R^2p=0,41) et une erreur très forte (43%).
Ces deux essais de calibration nous ont donc montré qu'il est tout d'abord possible de mettre au point des calibrations spécifiques du traitement congélation/décongélation du foie. Mais, nous en concluons également qu'il sera malgré tout indispensable d'intégrer toute sorte de variabilité susceptible de modifier la signature spectrale dans de futures calibrations afin de disposer d'un modèle robuste, spécifique de la congélation/décongélation et utilisable sur des foies tout-venants.

Lors de la phase 2 du projet, la variabilité sur la provenance des foies a été intégrée (Tableau 1). Une première analyse de validation a tout d'abord été mise en œuvre en testant les modèles de l'action de calibration de la phase 1 sur la nouvelle population de foies gras. Cette validation externe a pu confirmer les problèmes de robustesse qui avaient été mis en évidence précédemment : le coefficient de détermination de la validation externe était très faible (R^2p=0,09) et l'erreur de classification était forte (34% de foies mal classés). Ces résultats nous ont poussé à considérer cette nouvelle population de foies comme une base de données conçue spécifiquement pour la mise au point de calibrations robustes pour la détection des foies congelés/décongelés sur des lots de foies « tout venant ».
Afin de répondre à la fois aux besoins de mise au point de nouvelles calibrations robustes mais aussi aux objectifs de test de performance des modèles en validation externe propre à la phase 2, la population de 300 foies a été divisée en 2 (Figure 5)

- Sous-population de calibration/validation croisée : abattoirs 2 + 3 (n=200)
- Sous-population de validation externe : abattoir 1 (n=106)

Validation externe / n=106 — Calibration / n=200

Durée de conservation	Abattoir 1		Abattoir 2		Abattoir 3	
	Frais	Surgelé	Frais	Surgelé	Frais	Surgelé
0 jour (T0)	15	20	15	20	15	30
7 jours (T7)	30	-	30	-	-	40
14 jours (T14)	21	20	15	20	15	-
Total	66	40	60	40	30	70

Figure 5 : Répartition des foies pour la phase 2

Les résultats des calibrations couplés avec les validations externes ont révélé des modèles fortement ajustés : R^2c de 0,60 à 0,96 (calibration), R^2cv de 0,59 à 0,91 (validation croisée) et R^2p de 0,67 à 0,86 (figure 5). Les modèles étaient donc globalement robustes quel que soit le type de prétraitement de spectre mis en œuvre. Les modèles les plus simples étaient déjà précis avec 13% d'erreur pour le modèle appliquant une simple correction de ligne de base et

un léger lissage du signal (ordre 4). Ce modèle montre toutefois une erreur très déséquilibrée vers les faux négatifs, ce qui nuit fortement à la qualité de détection des foies. L'utilisation de la procédure GLSW (General Least Square Weighting) qui consiste en un filtre de sélection à priori des zones spectrales en lien avec la grandeur à prédire a cependant permis d'améliorer fortement la précision des modèles de classification : seulement 2% d'erreur de classification avec une répartition faux positifs/faux négatifs assez équilibrée (37%/63%).

CONCLUSION

La détection des foies gras congelés et vendus en frais est un enjeu d'importance pour la filière et mettre au point une méthode de détection fiable et robuste à destination du service des fraudes permettrait d'éviter des pratiques frauduleuses et contribuerait à assurer une plus grande loyauté des transactions commerciales. De fait, ce type de pratique – même si limité en volume - biaise l'équilibre de l'offre et la demande : en créant une disponibilité artificielle sur le marché du foie gras frais de fin d'année et pèse sur la filière avec un manque à gagner estimé *a minima* à 1,2 M d'€.

Les méthodes MALDI-TOF et de SPIR pourraient permettre de répondre à cette demande. En effet, les niveaux de précision atteints pour ces deux méthodes dans le cadre d'une véritable validation externe (site, dates et population différentes) donnent de très bonnes perspectives de développement d'une application pour la détection des foies congelés/décongelés. Il pourrait également être envisagé de réaliser une analyse statistique combinée des 2 méthodes pour gagner en robustesse et en fiabilité.

L'enjeu reste malgré tout aujourd'hui de valider ce niveau de performance sur un échantillonnage plus conséquent et représentatif.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les abattoirs pour l'organisation des sessions d'échantillonnage et de prise de mesure ainsi que la DGER via le CASDAR FACADE 2018-2020, et le CIFOG pour leur soutien financier du projet.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andrés S., Murray I., Navajas E.A., Fisher A.V., Lambe N.R., Bünger L. 2007. Meat Science (76) 509–516.
- Bastianelli D., Bonnal L., Chartrin P., Bernadet M-D., Marie-Etancelin C., Baéza E. 2009. Journées de la Recherche Avicole.
- Chartrin P., Rousseau X., Gigaud V., Bastianelli D., Baeza E., 2010. 13èmes Journées des Sciences du Muscles et Technologies de la Viande.
- De Marchi M., Berzaghi P., Boukha A., Mirisola M., Gallo L. 2007. Italian Journal of Animal Science, 6(Suppl. 1), 421–423.
- Gaitan-Jurado A., Ortiz-Somovilla V., Espana-Espana F, Perez-Aparicio J., De Pedro-Sanz E. 2008. Meat Science 78 (2008) 391–399.
- Liao Y-T., Fan Y-X., Cheng F. 2010. Meat Science (86) 4, 901-907
- Marie-Etancelin C., Fernandez X., Baéza E., Bonnal L., Manse H., Chartrin P., Bernadet M., Bastianelli D. 2010. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras.
- Molette C., Berzaghi P., Zotte A., Remignon H., Babile R. 2001. Poultry Science, 80(11), 1625.
- Nomura, F. 2015. Biochim. et Bioph. Acta - Proteins and Proteomics, 1854 (6), 528-537.
- Stahl A., Schröder U. 2017. Journal of Agricultural and Food Chemistry, (65), 7519-7527.
- Théron, L., Sayd, T., Chambon, C., Vautier, A., Ferreira, C., Aubry, L., Ferraro, V., & Santé-Lhoutellier, V. 2020. Food Control
- Thyholt K., Isaksson T. 1991. J Sci Food Agric, 73 : 525-532
- Togersen G., Isaksson T., Nilsen B., Bakkerb E., Hildrum K. 1999. Meat Science 51: 97-102.
- Uddin M., Okazaki E. 2004. J Food Sci, 69 : C665-C668
- Ulrich S., Beindorf P.M., Biermaier B., Schwaiger K., Gareis M., Gottschalk C.A. 2017. Food Control, 80, 281-289..

Tableau 1. Les modalités testées lors de la seconde phase du projet, intégrant de la variabilité afin de se rapprocher de la réalité du terrain.

Traitement	Conservation Durée en j	Conservation température	Gamme de poids	Abattoir 1	Abattoir 2	Abattoir 3
Frais	non	non	< 500g	5	5	5
			500 - 600g	5	5	5
			> 600g	5	5	5
Frais	7	0	< 500g			5
			500 - 600g			5
			> 600g			5
Frais	7	4	< 500g		5	5
			500 - 600g		5	5
			> 600g		5	5
Frais	7	8	< 500g		5	
			500 - 600g		5	
			> 600g		5	
Frais	14	4	< 500g	5	5	5
			500 - 600g	5	5	5
			> 600g	5	5	5
Surgelés janv	2	4	< 500g	5		6
			500 - 600g	5		7
			> 600g	5		7
Surgelés janv	7	4	< 500g	6		
			500 - 600g	7		
			> 600g	7		
Surgelés janv	14	4	< 500g			6
			500 - 600g			7
			> 600g			7
Surgelés mars	2	4	< 500g	5	6	
			500 - 600g	5	7	
			> 600g	5	7	
Surgelés mars	7	4	< 500g	6		
			500 - 600g	7		
			> 600g	7		
Surgelés mars	14	4	< 500g		6	
			500 - 600g		7	
			> 600g		7	

REEXPRESSION DE FACTEURS MYOGENIQUES PRECOCES AU MOMENT DE L'APPARITION DES DEFAUTS MUSCULAIRES CHEZ LE POULET STANDARD

Christophe Praud[1], Michel Duclos[1], Estelle Godet[1], Thierry Bordeau[1], Jean-Marc Thoby[2], Vérane Gigaud[2], Cécile Berri[1]

[1]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 Nouzilly,
[2]DSM - Nutritional Products France, Tour Nova, 71 boulevard National, 92 250 La Garenne-Colombes
christophe.praud@inrae.fr

RÉSUMÉ
Les souches de poulet à croissance rapide présentent des défauts musculaires qui pénalisent fortement la qualité de la viande. Les deux principaux sont les défauts *White Striping* (WS) et *Wooden Breast* (WB) qui impliquent des processus de dégénérescence et régénération des fibres musculaires accompagnés d'un développement excessif de matrice extracellulaire. Notre objectif était de suivre l'évolution dès l'incubation jusqu'à l'abattage (E17, J0, J6, J21, J36) de l'expression génique des principaux facteurs myogéniques et marqueurs de différenciation impliqués dans la formation et la régénération du muscle : Pax7 et Myf5, respectivement marqueurs des cellules satellites et de prolifération des myoblastes ; MyoD impliqué dans la prolifération et l'engagement dans la différentiation des myoblastes en myocytes ; la Myogénine qui intervient lors de la fusion des myocytes en myotubes ; plusieurs isoformes de chaines lourdes de myosine (MyHC) dont l'expression évolue au cours de la croissance en lien avec l'établissement des propriétés contractiles et métaboliques du muscle ; plusieurs protéines (TGFβ, PDGFRA, COL6A3, FN1) impliquées dans la mise en place de la matrice extracellulaire. Nos résultats précisent les mécanismes cellulaires impliqués dans l'établissement des défauts musculaires chez le poulet et identifient de nouveaux marqueurs potentiels pour leur diagnostic et leur prévention.

ABSTRACT
Re-expression of early myogenic factors at the onset of muscle defects in standard chickens
Fast-growing chicken strains show muscle defects that strongly penalize meat quality. The most commonly reported are the *White Striping* (WS) and *Wooden Breast* (WB) defects, which involve processes of degeneration and regeneration of muscle fibers accompanied by an excessive development of extracellular matrix. Our objective was to follow the evolution from incubation to slaughter (E17, D0, D6, D21, D36) of the gene expression of the main myogenic factors and differentiation markers involved in muscle formation and regeneration: Pax7 and Myf5, satellite cell and myoblast proliferation markers, respectively; MyoD involved in proliferation and commitment to differentiation of myoblasts into myocytes; myogenin involved in fusion of myocytes into myotubes; several myosin heavy chain (MyHC) isoforms whose expression evolves during growth in connection with the establishment of contractile and metabolic properties of muscle; several proteins (TGFβ, PDGFRA, COL6A3, FN1) involved in the development of extracellular connective matrix. Our results clarify the cellular mechanisms involved in the establishment of muscle defects in chicken and identify new potential markers for their diagnosis and prevention.

INTRODUCTION

Depuis une dizaine d'année sont apparus dans les souches de poulet à croissance rapide des défauts musculaires qui pénalisent en premier lieu l'aspect visuel de la viande mais aussi ses caractéristiques nutritionnelles et technologiques (Baéza et al., 2019). Dans les cas les plus graves, ces défauts peuvent même entraîner des saisies et le retrait des produits à l'abattoir. En plus des pertes économiques engendrées pour la filière, la présence de ces défauts a récemment été associée à des problèmes de bien-être animal en élevage (Norring et al., 2018) et leur nature même (myopathie) altère gravement l'image de la production standard auprès des consommateurs.

Les deux principaux défauts reportés sur le terrain sont le *White Striping* (WS) et le *Wooden Breast* (WB) qui impliquent des processus de dégénérescence et régénération des fibres musculaires, généralement accompagnés d'un développement excessif de la matrice extracellulaire (conjonctif et adipocytes). Si nous disposons maintenant d'un nombre important de données concernant les modifications histologiques, et les dérégulations géniques et métabolomiques associés aux défauts (Abasht et al., 2016 ; Pampouille et al., 2019 ; Praud et al., 2021), nous manquons de données concernant l'évolution durant le développement de l'expression génique des principaux facteurs myogéniques impliqués dans la formation et la régénération du muscle, via notamment leur effet sur l'activation des cellules souches adultes, encore appelées cellules satellites (Mauro, 1961).

Dans cette étude, nous avons suivi dans une souche de poulet à croissance rapide (Ross 308), concernée par les défauts WS et WB, l'évolution de l'expression des principaux facteurs impliqués dans la formation et la régénération musculaire depuis la fin de l'incubation (E17), l'éclosion (J0) puis à différents stades jusqu'à l'abattage (J6, J21, J36). Les facteurs myogéniques ciblés étaient : Pax7 et Myf5, respectivement marqueurs des cellules satellites et de prolifération des myoblastes ; MyoD impliqué dans la prolifération et l'engagement dans la différentiation des myoblastes en myocytes ; la Myogénine qui intervient lors de la fusion des myocytes en myotubes (Zammit et al., 2006). Nous avons également suivi les étapes de différenciation musculaire au travers de l'étude de plusieurs isoformes de chaines lourdes de myosine (MyHC) et de marqueurs de la trame conjonctive (TGFβ, PDGFRA, COL6A3, FN1) dont l'expression évolue au cours de la croissance en lien avec l'établissement des propriétés du muscle.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental et prélèvements

Les prélèvements de muscle *Pectoralis major* (filet) ont été réalisés sur une population de poulets mâles Ross 308 incubés et élevés en conditions classiques à l'unité expérimentale PEAT (Centre INRAE Val de Loire, 37380 Nouzilly). A chaque stade, c'est-à-dire 17 jours d'incubation (E17), éclosion (J0), 6, 21 et 36 jours post-éclosion (J6, J21, J36), 12 muscles ont été prélevés dans les 5-10 minutes qui ont suivi la mort des animaux. Les muscles ont été congelés directement dans l'azote liquide et conservés à -80°C jusqu'à utilisation.

1.2. Quantification des niveaux d'expression des ARN messagers (ARNm)

Les muscles ont été broyés sous azote liquide et les ARNm ont été extraits à partir de 100 mg de broyat selon la méthode décrite par Chomzynski et Sacchi (1987). Une fois la qualité des ARNm vérifiée au Nanodrop (ratio 260/280 et 260/230 compris entre 1,8 et 2,2) et sur gel d'agarose (1%), 10 µg ont été rétro-transcrits pour obtenir les ADN complémentaires (ADNc) qui ont servi à la quantification de l'expression des gènes par PCR en temps réel. Cette phase a été réalisée sur la plateforme de microfluidique - Biomark de GeT-PlaGe (Centre INRAE de Toulouse) en utilisant des couples d'amorces spécifiques et validés en amont pour chaque gène. Le calcul des niveaux absolus d'ARNm a été réalisé en se basant sur l'efficacité de la PCR et la déviation du cycle seuil de l'ADNc de l'échantillon à quantifier par rapport à un ADNc témoin selon l'équation proposée par Pfaffl (2001).

1.3. Analyse statistique

L'effet du stade (âge) a été évalué pour chaque gène en appliquant un test Kruskall-Wallis. Les différences entre deux stades ont été jugées significatives pour une probabilité $P \leq 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Evolution de l'expression des facteurs myogéniques précoces au cours du développement

Chez le poulet, la population de cellules satellites apparaît dans les masses musculaires tardivement au cours de la vie fœtale, entre E15 et E17. A E18, la population de cellules satellites représente environ 85% de tous les progéniteurs musculaires et à l'éclosion la totalité (Gros et al., 2005). Les cellules satellites aviaires expriment le facteur de transcription Pax7. Nous avons observé que l'expression de Pax7 est maximale a E17 puis décroît régulièrement jusqu'à J21 (**Figure 1A**). Celle de Myf5, exprimé à la fois dans les cellules satellites et les myoblastes en prolifération, se maintient logiquement à un niveau élevé jusqu'à l'éclosion puis chute ensuite jusqu'à des niveaux 5 à 6 fois inferieurs durant la croissance post-natale (**Figure 1B**). La forte expression de Myf5 et Pax7 à E17 s'explique par le fait qu'à ce stade de développement, les cellules satellites s'installent dans

leur niche de cellule souche au sein des fibres musculaires.

A l'éclosion, nous observons un pic d'expression du facteur myogénique MyoD, qui est un marqueur d'engagement dans la différenciation des myoblastes. Son expression diminue progressivement par la suite jusqu'à J21 (**Figure 2A**). Le profil d'expression de la Myogénine, impliquée dans la fusion des myotubes et la maturation des fibres musculaires, est plus complexe, avec deux pics d'expression observés à E17 et J6, indiquant que d'importants phénomènes de différenciation se déroulent à ces deux stades (**Figure 2B**).

La diminution du rapport MyoD/Myf5 est un indicateur de l'activité prolifératives des cellules satellites. Il est minimal à E17 et à l'éclosion, puis décroit de nouveau à J21 (**Figure 3A**). Une forte activité prolifératives au sein du muscle jusqu'à l'éclosion est confirmée par le niveau élevé d'expression du facteur de prolifération PCNA (**Figure 3B**). La forte activité prolifératives observée à l'éclosion est cohérente avec l'expression particulièrement faible de la Myogénine, qui est un marqueur de différentiation des cellules musculaires. A J6, les niveaux d'expression des différents facteurs myogéniques étudiés indiquent à l'inverse un engagement fort des cellules musculaires dans la voie de la différenciation, avec notamment une baisse de l'expression de Myf5, MyoD et Pax7, et une augmentation de l'expression de la Myogénine et du rapport MyoD/Myf5.

En accord avec les connaissances acquises à ce jour, l'expression des facteurs myogéniques diminuent graduellement après l'éclosion. Toutefois, nos résultats indiquent qu'entre 21 et 36 jours l'expression de certains d'entre eux augmentent de nouveau. C'est notamment le cas pour le marqueur de prolifération PCNA, le marqueur des cellules satellites Pax7, et le marqueur de différenciation MyoD. Cette augmentation à des stades tardifs de facteurs myogéniques précoces pourraient être liée aux phénomènes de nécrose-régénération des fibres fréquemment observés à l'âge d'abattage dans les muscles pectoraux des souches de poulets à croissance rapide et qui sont liés à l'apparition des défauts de qualité WS et WB (Praud et al., 2020). Une augmentation nette du rapport MyoD/Myf5 est également observée à J36, qui pourrait indiquer un déficit de capacité prolifératives des cellules satellites à ce stade, expliquant ainsi la difficulté du muscle à former de nouvelles fibres. Ce déficit de capacité prolifératives est souvent associé à un dépôt de tissu fibreux et adipeux extracellulaire, dépôts observés chez le poulet standard (Praud et al., 2020).

2.2 Evolution de l'expression des marqueurs de différenciation musculaire

Les myosines constituent l'appareil contractile du muscle strié. Elles sont composées de deux chaînes lourdes, les MyHC et 4 chaînes légères, les MyLC. Il en existe plusieurs formes, dont les propriétés sont directement liées à l'activité contractile, et donc métabolique, du muscle. Au cours du développement du muscle *Pectoralis major*, deux isoformes de MyHC, embryonnaire et néonatale, sont exprimées de manière transitoire avant de laisser place à la forme dite adulte.

De E17 à J21, l'évolution de l'expression des différentes formes de MyHC au cours du développement est conforme à celle attendue, à savoir : une décroissance progressive de l'expression de la forme embryonnaire, un pic d'expression à J6 pour la forme néonatale et une augmentation progressive de l'expression de la forme adulte (**Figures 4A-C**). Entre J21 et J36, l'augmentation de l'expression de la forme adulte se poursuit, et de manière plus surprenante nous observons une augmentation conséquente (×3 par rapport à J21) de l'expression de la forme embryonnaire. Nous observons également une forte augmentation (×6 par rapport à J21) de l'expression d'une forme de MyHC spécifique des fibres en régénération : MyH15 (**Figure 4D**). La réexpression tardive (J36) de ces marqueurs de régénération est concomitante à celle de plusieurs marqueurs du développement du tissu conjonctif (TGFβ, PDGFRA, COL6A3, FN1, **Figures 5A-D**), dont il a été montré que l'expression augmente avec l'apparition de fibrose dans les muscles atteints de WS et WB (Praud et al., 2020).

CONCLUSION

Le suivi de l'expression des principaux facteurs myogéniques au cours du temps montre une cinétique d'évolution cohérente avec les différents évènements de prolifération et de différenciation cellulaires qui interviennent lors de la formation du muscle strié squelettique. De manière intéressante, nos résultats montrent une réexpression tardive de facteurs myogéniques précoces. Celle-ci est concomitante à l'augmentation d'expression de protéines exprimées par les fibres musculaires en régénération et la matrice conjonctive du muscle. Il est maintenant bien établi que ces deux phénomènes (régénération des fibres et fibrose extracellulaire) sont largement impliqués lors de l'établissement des défauts musculaires *Wooden Breast* et *White Striping* qui affectent actuellement les souches de poulet à croissance rapide utilisées pour la production standard. Ceci suggère que la mise en place de ces défauts induit une dérégulation des facteurs myogéniques précoces, qui constituent de ce fait de nouveaux marqueurs potentiels pour leur diagnostic et leur prévention. Des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les facteurs génétiques ou environnementaux à l'origine de leur réactivation dans le muscle des poulets en croissance, et les mécanismes de régulation associés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abasht B., Mutryn M.F., Michalek R.D., Lee W.R., 2016. Plos One. (11), e0153750.
Baéza E., Le Bihan-Duval E., Pampouille E, Bourin M., Berri C. In '13èmes JRAPFG', 20-21/03, Tours, France. pp. 442-453.
Chomczynski P., Sacchi N., 1987. Anal. Biochem., (162):156-159.
Gros J, Manceau M, Thomé V, Marcelle C., 2005. Nature. (435:7044), 954-958.
Mauro A., 1961. J. Biophys. Biochem. Cytol. (9), 493-495.
Norring M., Valros A., Valaja J., Sihvo H.K., Immonen K., Puolanne E., 2018. Animal. (17), 1-6.
Pampouille E., Hennequet-Antier C., Praud C., Juanchich A., Brionne A., Godet E., Bordeau T., Fagnoul F., Le Bihan-Duval E., Berri C., 2019. Sci Rep. (9), 14905.
Pfaffl M.W., 2001. Nucleic Acids Res. (29), e45.
Praud C., Jimenez J., Pampouille E., Couroussé N., Godet E., Le Bihan-Duval E., Berri C., 2020. Front Physiol. (11), 633.
Praud C., Pampouille E., Le Bihan-Duval E., Berri C., 2021. Front Physiol. (12), 745031.
Zammit P.S., Partridge T.A., Yablonka-Reuveni Z. 2006 J. Histochem. Cytochem. (54), 1177-1191.

Figure 1. Niveaux d'expression en ARNm des facteurs myogéniques Pax7 (A) et Myf5 (B).
a-d : différences significatives entre stades (P≤0,05)

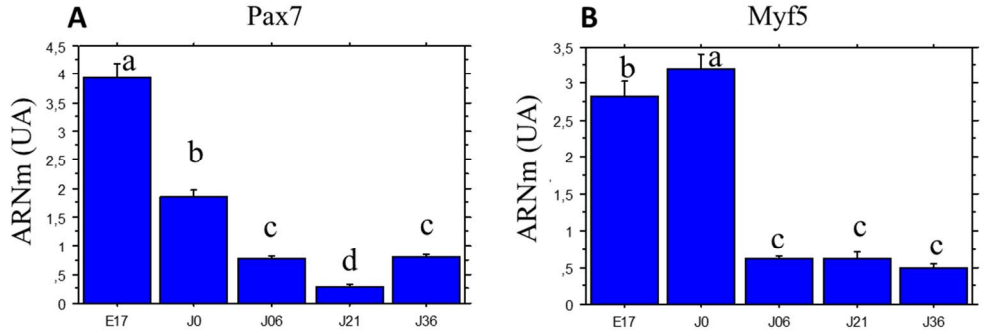


Figure 2. Niveaux d'expression en ARNm des facteurs myogéniques MyoD (A) et Myogénine (B).
a-d : différences significatives entre stades (P≤0,05)

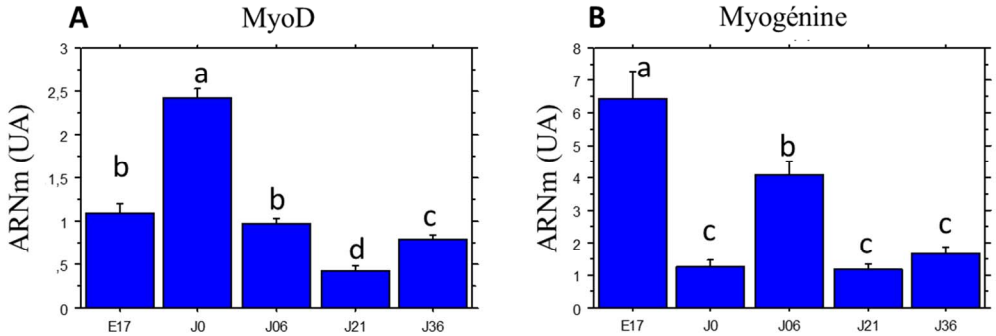


Figure 3. Rapport entre l'expression ARNm des facteurs MyoD et Myf5 (A) et niveau d'expression en ARNm du marqueur de prolifération PCNA (B). a-d : différences significatives entre stades (P≤0,05)

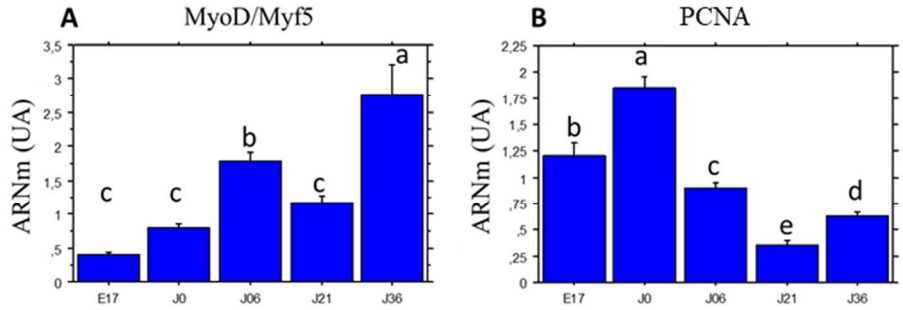


Figure 4. Niveaux d'expression en ARNm des isoformes de chaines lourdes de myosine, MyHC embryonnaire (A), néonatale (B), adulte (C), 15 (D). a-d : différences significatives entre stades (P≤0,05)

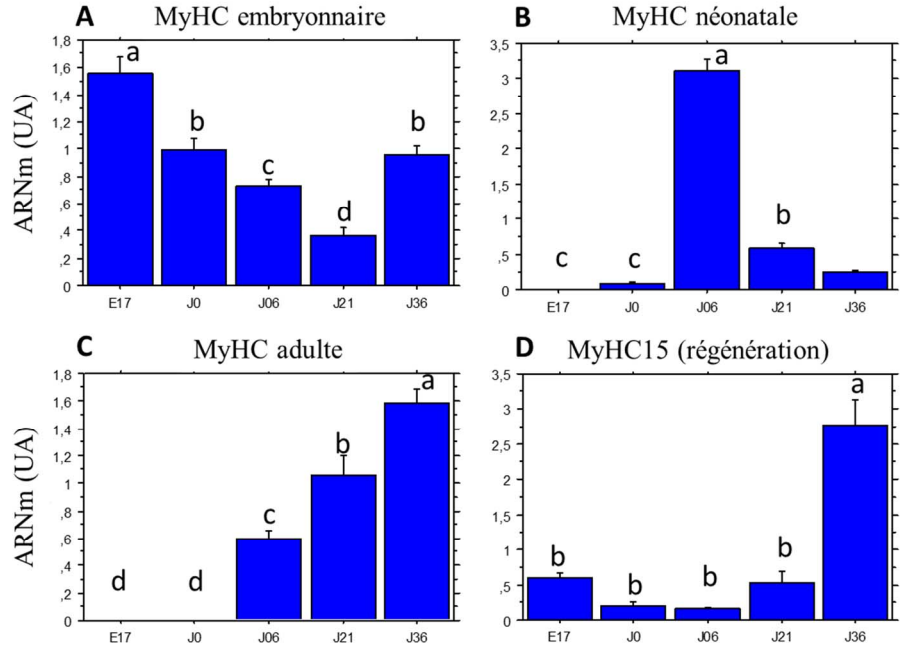
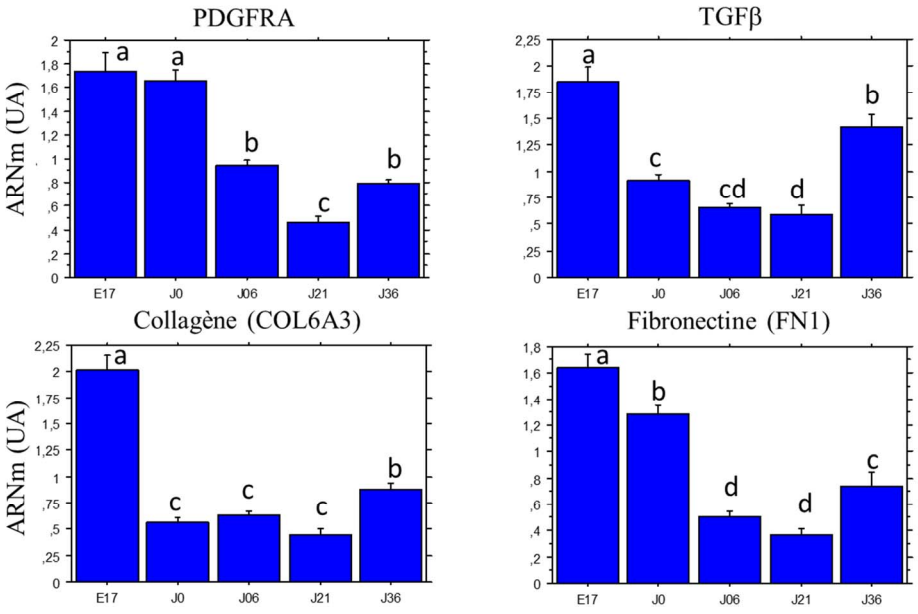


Figure 5. Niveaux d'expression en ARNm de gènes impliqués dans la formation de la matrice extracellulaire, PDGFRA (A), TGFβ (B), COL6A3 (C), FN1 (D). a-d : différences significatives entre stades (P≤0,05).



DETECTION ET CARACTERISATION DE SOUCHES DE *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE* DANS DES ELEVAGES DE POULETS EN FRANCE

Le Maréchal Caroline[1], Guyard Muriel[1], Martin Laure[1], Gateau Cécile[2], Rouxel Sandra[1], Couturier Jeanne[2], Poezevara Typhaine[1], Syed-Zaidi Rabab[2], Marault Muriel[3], Youssouf Anlyata[2], Kooh Pauline[4], Chemaly Marianne[1], Barbut Frédéric[2], Firmesse Olivier[3]

[1] ANSES, LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN-PLOUZANE-NIORT, UNITE HQPAP- BP53 - 22440 PLOUFRAGAN

[2] CENTRE NATIONAL DE REFERENCE CLOSTRIDIUM DIFFICILE, HOPITAL SAINT-ANTOINE, ASSISTANCE PUBLIQUE- HOPITAUX DE PARIS - 34 rue Crozatier - 75012 PARIS

[3] ANSES, LABORATOIRE DE SECURITE DES ALIMENTS, UNITE SBCL - 14 Rue Pierre et Marie Curie - 94700 MAISONS-ALFORT

[4] ANSES, DIRECTION DE L'EVALUATION DES RISQUES - UERALIM - 14 Rue Pierre et Marie Curie - 94700 MAISONS-ALFORT

Caroline.lemarechal@anses.fr

RÉSUMÉ

Clostridioides difficile est la première cause mondiale de diarrhées infectieuses nosocomiales chez les adultes. Une augmentation des infections à *C. difficile* d'origine communautaire est également notée ces dernières années dont les sources potentielles sont l'environnement, les animaux, les aliments et les contacts humains. Une étude récente menée en Allemagne en 2021 a permis d'isoler des souches de *C. difficile* à partir de viandes de poulets et de dindes avec peau. La caractérisation de ces souches a montré la présence d'isolats présentant des ribotypes similaires à ceux retrouvés dans les infections humaines. Aucune donnée n'est actuellement disponible en France au sujet de la prévalence ou des caractéristiques des souches de *C. difficile* dans la filière avicole.

L'objectif de notre étude était d'évaluer la prévalence de *C. difficile* au stade de l'élevage dans la filière avicole et de caractériser les souches isolées. Un total de 190 échantillons de contenus caecaux de poulets de chair en provenance de 21 élevages a été analysé sur milieu sélectif. Une sélection de 20 souches a ensuite été caractérisée par PCR-Ribotypage (méthode de référence de typage de *C. difficile*), par PCR ciblant les facteurs de virulence *(tcdA*, *tcdB*, *tcdC*, *cdtA*, *cdtB*) et la sensibilité aux antibiotiques a été évaluée. *C. difficile* a été détecté dans 50 contenus caecaux (26,3%) provenant de 18 élevages. Toutes les souches caractérisées présentent les gènes codant pour les toxines A et B; seules deux souches présentent les gènes codant pour la toxine binaire. Les PCR-Ribotypes sont très variés (13 profils identifiés), dont certains sont communs à ceux impliqués dans les infections humaines en France tels que les PCR-Ribotypes 001, 005, 015 ou 020. Toutes les souches sont sensibles à la vancomycine, au métronidazole, à l'érythromycine et à la moxifloxacine, 5 % à la clindamycine, 90 % à la tétracycline. Cette étude permet de disposer d'un premier aperçu des caractéristiques d'isolats de *C. difficile* provenant de caeca de poulets de chair en France.

ABSTRACT

Detection and characterization of *Clostridioides difficile* strains in French broiler farms

Clostridioides difficile is the major cause of nosocomial diarrhea in adults worldwide. A raise in the number of *C. difficile* infections in the community has also been reported, the potential suspected sources being environment, animals, food and human contacts. A recent study conducted in Germany and published in 2021 has allowed the isolation of *C. difficile* from chicken and turkey meat with skin. Characterization of the isolates using PCR-ribotyping showed similarities between poultry and human strains. There has been no available data about the prevalence or characterization of *C. difficile* in poultry in France up to now.

The objective of our study was to evaluate the occurrence of *C. difficile* in poultry farms and their characterization. A total of 190 samples of caecal contents from 21 farms was analysed on selective medium. Twenty strains were further selected and characterized using PCR-Ribotyping (gold standard for *C. difficile* typing), multiplex PCR for the detection of virulence factors (*(tcdA*, *tcdB*, *tcdC*, *cdtA*, *cdtB*) and antibiotic sensitivity was evaluated. *C. difficile* was detected in 50 caecal contents (26.3%) coming from 18 farms. Genes encoding for Toxin A and B were detected in all isolates, and only two isolates had the genes encoding for binary toxin. PCR-Ribotypes were highly variable (13 profiles), some of which were similar to the ones involved in human infections such as 001, 005, 015 ou 020. All isolates were sensitive to vancomycin, moxifloxacin, metronidazole, erythromycin, 5% to clindamycin and 90% to tetracycline. This study provides a first picture of characteristics *C. difficile* isolated from broiler caecal contents in France.

INTRODUCTION

Clostridioides difficile, anciennement classifié comme *Clostridium difficile* (Lawson 2016) est une bactérie à coloration de Gram positif, anaérobie, sporulée, considérée comme un pathogène émergent responsable de diarrhées et colites chez l'Homme et les animaux. Les infections à *C. difficile* constituent la cause majeure de diarrhées nosocomiales chez l'adulte et *C. difficile* est de plus en plus associé à des infections communautaires (Barbut et al. 2019). Les animaux et les aliments sont considérés comme des réservoirs potentiels de souches de *C. difficile* (Knight et al. 2019). Des études récentes ont permis de détecter et isoler des souches de *C. difficile* dans des abats de volaille (17% dont 28% des gésiers analysés et 6% des foies analysés) (Candel-Perez et al. 2021) et dans de la viande de volaille (16,8% de viande de poulet avec peau) (Heise et al. 2021). La caractérisation des souches isolées de ces études a permis de mettre en évidence des profils similaires entre les souches isolées de produits de volaille et les souches impliquées dans les infections humaines. Les volailles apparaissent comme un hôte naturel de *C. difficile*, via un portage asymptomatique (Rodriguez Diaz et al. 2018).
Aucune étude n'a été menée en France jusqu'à présent pour évaluer la présence de *C. difficile* ou caractériser les souches de *C. difficile* dans la filière avicole. L'objectif de cette étude était de collecter des premières données afin d'estimer la prévalence de *C. difficile* au stade de l'élevage dans la filière avicole en France et de caractériser une sélection de souches isolées.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Echantillons de contenus caecaux

Des contenus caecaux (entre 7 et 10 contenus caecaux par élevage) en provenance de 21 élevages de poulets de chair ont été inclus dans cette étude (Total de 190 échantillons). Les lots des poulets (un lot par élevage) comprenaient entre 8658 et 33 660 animaux (moyenne d'un lot de 22 780 animaux).
Les échantillons ont été prélevés en France, en juin et juillet 2019 sur des animaux âgés de 29 à 33 jours. Ils ont été stockés au congélateur jusqu'à la mise en analyse.

1.2 Protocole de détection de *C. difffficile* dans les contenus caecaux

Un gramme de chaque contenu a été dilué au dixième dans 9 ml de Brain Heart Infusion (BHI; Bio-Mérieux, Craponne, France) supplémenté en taurocholate (1%, Sigma Aldrich, Lyon, France), cefoxitine (8 mg/l) et cyclosérine (250 mg/l) (Oxoid, Dardilly, France). Les tubes ont ensuite été incubés à 37°C dans une enceinte anaérobie (A35; Don Whitley commercialisé par Bio-Mérieux, Bruz, France) alimenté par un gaz anaérobie (10% H2, 10% CO2, 80% N2). Après 7 jours d'incubation, un isolement a été réalisé à partir de 10 µl de bouillon sur milieu ChromID *C. difficile* agar (BioMérieux, Craponne, France). Les boîtes ont été incubés à 37°C dans l'enceinte anaérobie pendant 48h puis les colonies présentant les caractères spécifiques de *C. difficile* ont été réisolées sur milieu non sélectif avant d'être mises en collection à -80°C (3 isolats par échantillon).

1.3 Caractérisation des isolats

L'extraction d'ADN, la détection par PCR des gènes codant pour les toxines A, B, toxine binaire (gènes *cdtA* et *cdtB*), les gènes *lok* (présent uniquement chez les souches non toxiques), *tpi* (gène caractéristique de *C. difficil*e confirmant l'identification) et *tcdC* (régulateur des gènes codant pour les toxines A et B, identification des délétions), l'identification du PCR-Ribotype (méthode de référence international pour le typage de *C. difficile*) et l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques ont été réalisées tel que décrit précédemment (Le Maréchal et al. 2020).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Détection de *C. difficile* dans les contenus caecaux des poulets de chair

C. difficile a été détecté sur ChromID *C. difficile* agar dans 50 échantillons sur les 190 analysés soit 26,3%. Dans les études similaires menées précédemment dans d'autres pays, les résultats montraient une détection de 62,3% dans des fèces de poules pondeuses (Zidaric et al. 2008) ; de 0% (Zhang et al. 2020), 29% (Simango et al. 2008) et 5% (Indra et al. 2009), dans des fèces de poulets de chair, de 5,8% dans des fèces de volaille (Koene et al. 2012) et de 11,53% dans des contenus intestinaux de volaille (Abdel-Glil et al ; 2018). Aucun protocole standardisé n'existe au niveau international pour la détection de *C. difficile*, les méthodes de détection appliquées varient donc d'une étude à une autre ce qui pourrait expliquer les différences de prévalence observées entre les études.

Sur les 21 élevages investigués dans cette étude, *C. difficile* a été détecté dans 18 élevages dans 10 à 78% des échantillons (Figure 1). A notre connaissance, cette étude est la première menée au stade de l'élevage portant sur la comparaison du niveau de détection de *C. difficile* au sein de chaque élevage. Les études précédentes disponibles dans la littérature portaient sur : l'analyse d'échantillons prélevés dans un nombre réduit d'élevages (Zidaric et al. 2008) ou sans indication précise concernant l'élevage d'origine (Zhang et al. 2020), sur l'analyse d'échantillons prélevés au stade de l'abattoir (Abdel-

Glil et al ; 2018, Indra et al. 2009), au stade de la distribution (Simango et al. 2008) ou reçus pour analyse dans le cadre de diagnostic vétérinaire (Koene et al. 2012).

2.2 Caractérisation des isolats de *C. difficile*

2.2.1 Confirmation de *C. difficile* et détection des gènes codant pour les toxines par PCR

Une sélection de 20 isolats a été caractérisée, issus de 12 élevages. Les isolats ont été sélectionnés de façon à évaluer la diversité intra et inter élevages. La détection du gène *tpi* a confirmé l'identification de *C. difficile*. L'ensemble des souches caractérisées possède les gènes codant pour les toxines A et B, les deux facteurs de virulence majeurs de *C. difficile*. Les gènes codant pour la toxine binaire ont été détectés dans 2 souches (10%), ce qui semble en accord avec les études précédentes dans lesquelles les souches d'origine avicole présentaient les gènes codant pour les toxines A et B mais pas le gène codant pour la toxine binaire (Indra et al. 2009, Koene et al. 2012). Le rôle exact de ce facteur de virulence n'a pas été clairement identifié mais les souches produisant cette toxine présentent une virulence accrue (Cowardin et al. 2016). Une délétion au niveau du gène *tcdC* a été détectée dans 3 souches. Ce gène est un répresseur des gènes codant pour les toxines A et B, une délétion entraine donc un dysfonctionnement au niveau de la régulation de ces gènes et une surproduction des toxines (Persson at al. 2011).

2.2.2 PCR-Ribotypes

La méthode internationale de référence pour le typage de *C. difficile* est la méthode de PCR-Ribotypage. Un total de 13 PCR-Ribotypes différents a été identifié parmi les 20 souches testées en provenance de 12 élevages différents (Tableau 1). Pour 8 élevages (B, E, F, I, J, K, N, O), deux isolats ont été caractérisés et pour 5 de ces élevages (B, F, I, N, O), deux PCR-Ribotypes distincts ont été identifiés.

Cette forte diversité des PCR-Ribotypes retrouvée en volaille entre les élevages ou au sein d'un élevage est rapportée dans la littérature (Rodriguez Diaz et al. 2018). Ainsi, 12 PCR-Ribotypes différents ont par exemple été identifiés via l'analyse de 44 souches isolées d'un seul élevage de poules pondeuses (Zidaric et al. 2008).

Certains des PCR-Ribotypes identifiés dans notre étude sont régulièrement associés à des infections humaines (en particulier les PCR-Ribotypes 001, 003, 005, 015, 020, 087, 131).

Malgré la très forte variabilité des PCR-Ribotypes détectés dans cette étude et entre les études disponibles dans la littérature, le PCR-Ribotype 001 semble être retrouvé fréquemment au niveau des volailles (Heise et al. 2021, Berger et al. 2011, Abdel-Gil et al. 2018, Indra et al. 2009). Il a été retrouvé dans 2 élevages différents dans notre étude.

Ce PCR-Ribotype impliqué dans les infections humaines soulève la question d'un éventuel rôle de réservoir joué par les volailles. Une comparaison génomique d'isolats d'origine aviaire et d'isolats cliniques humains permettrait d'explorer cette hypothèse.

2.2.3 Sensibilité aux antibiotiques

Toutes les souches isolées au cours de notre étude sont sensibles à la vancomycine, au métronidazole, à l'érythromycine et à la moxifloxacine et 5% des souches à la clindamycine ainsi que 90% des souches à la tétracycline. Les souches résistantes à la tétracycline sont les souches de PCR-Ribotype 131 (retrouvé dans l'élevage N) qui possèdent le gène codant pour la toxine binaire et présentent une délétion au niveau du gène *tcdC*. La résistance à la clindamycine est courante chez *C. difficile* (Rodriguez Diaz et al. 2018).

CONCLUSION

Cette étude est la première menée en France sur la détection et la caractérisation de *C. difficile* dans la filière avicole au stade de l'élevage. Les résultats montrent que sur 21 élevages de poulets de chair investigués, 18 présentaient au moins un résultat positif. Une forte diversité des souches isolées a été observée. Certains PCR-Ribotypes détectés correspondent à des PCR-Ribotypes impliqués dans les infections humaines, soulevant la question du rôle éventuel joué par la volaille en tant que réservoirs de souches de *C. difficile* transmissibles à l'homme.

Ce projet se poursuit via une nouvelle étude (CLOSTABAT, financement ANR) qui démarre en 2022 et vise notamment à évaluer la contamination dans les différentes filières viandes par *C. difficile* au stade de l'abattoir, puis à caractériser les souches isolées dans l'optique d'évaluer leur éventuel potentiel zoonotique via une approche d'attribution des sources. La détection et la caractérisation de souches de *C. difficile* dans les viandes de volailles sont programmées en 2022 dans le cadre d'un plan de surveillance et plan de contrôle (PSPC) de la DGAL.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier l'ensemble des éleveurs et des organisations de production pour leur participation à l'étude. Cette étude a été financée par l'Anses (AMI transversalité 2018, projet DIFALIBO) et le conseil départemental des Côtes d'Armor.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdel-Glil, M.Y., Thomas, P., Schmoock, G., Abou-El-Azm, K., Wieler, L.H., Neubauer, H., and Seyboldt, C. (2018). Anaerobe 51, 21-25.

Barbut, F., Day, N., Bouee, S., Youssouf, A., Grandvoinnet, L., Lalande, V., Couturier, J., and Eckert, C. (2019). Clin Microbiol Infect 25, 588-594.

Candel-Pérez, C., Santaella-Pascual, J., Ros-Berruezo, G., and Martínez-Graciá, C. (2021). J Food Prot 84, 310-314.

Cowardin, C.A., Buonomo, E.L., Saleh, M.M., Wilson, M.G., Burgess, S.L., Kuehne, S.A., Schwan, C., Eichhoff, A.M., Koch-Nolte, F., Lyras, D., Aktories, K., Minton, N.P., and Petri, W.A. (2016). Nature Microbiology 1, 16108.

Heise, J., Witt, P., Maneck, C., Wichmann-Schauer, H., and Maurischat, S. (2021). Int J Food Microbiol 339, 109032.

Indra, A., Lassnig, H., Baliko, N., Much, P., Fiedler, A., Huhulescu, S., and Allerberger, F. (2009). Wien Klin Wochenschr 121, 91-95.

Knight, D.R., Kullin, B., Androga, G.O., Barbut, F., Eckert, C., Johnson, S., Spigaglia, P., Tateda, K., Tsai, P.J., and Riley, T.V. (2019). MBio 10.

Koene, M.G., Mevius, D., Wagenaar, J.A., Harmanus, C., Hensgens, M.P., Meetsma, A.M., Putirulan, F.F., Van Bergen, M.A., and Kuijper, E.J. (2012). Clin Microbiol Infect 18, 778-784.

Lawson, P. A., D. M. Citron, K. L. Tyrrell, and S. M. Finegold. (2016). Anaerobe 40:95-9.

Le Maréchal, Caroline, Cécile Gateau, Typhaine Poezevara, Jeanne Couturier, Sandra Rouxel, Rabab Zyed-Saidi, Emmanuelle Houard, Anne-Marie Pourcher, Martine Denis, and Frédéric Barbut. (2020). Anaerobe:102180-102180.

Persson, S., Jensen, J.N., and Olsen, K.E. (2011). J Clin Microbiol 49, 4299-4300.

Rodriguez Diaz, C., Seyboldt, C., and Rupnik, M. (2018). Adv Exp Med Biol 1050, 227-243. Simango, C., and Mwakurudza, S. (2008). Int J Food Microbiol 124, 268-270.

Simango, C., and S. Mwakurudza. (2008). Int J Food Microbiol 124 (3):268-70.

Zhang, W.Z., Li, W.G., Liu, Y.Q., Gu, W.P., Zhang, Q., Li, H., Liu, Z.J., Zhang, X., Wu, Y., and Lu, J.X. (2020). BMC Microbiol 20, 70.

Zidaric, V., Zemljic, M., Janezic, S., Kocuvan, A., and Rupnik, M. (2008). Anaerobe 14, 325-327.

Figure 1. Résultats de détection de *C. difficile* dans les contenus caecaux de poulets de chair en provenance de 21 élevages

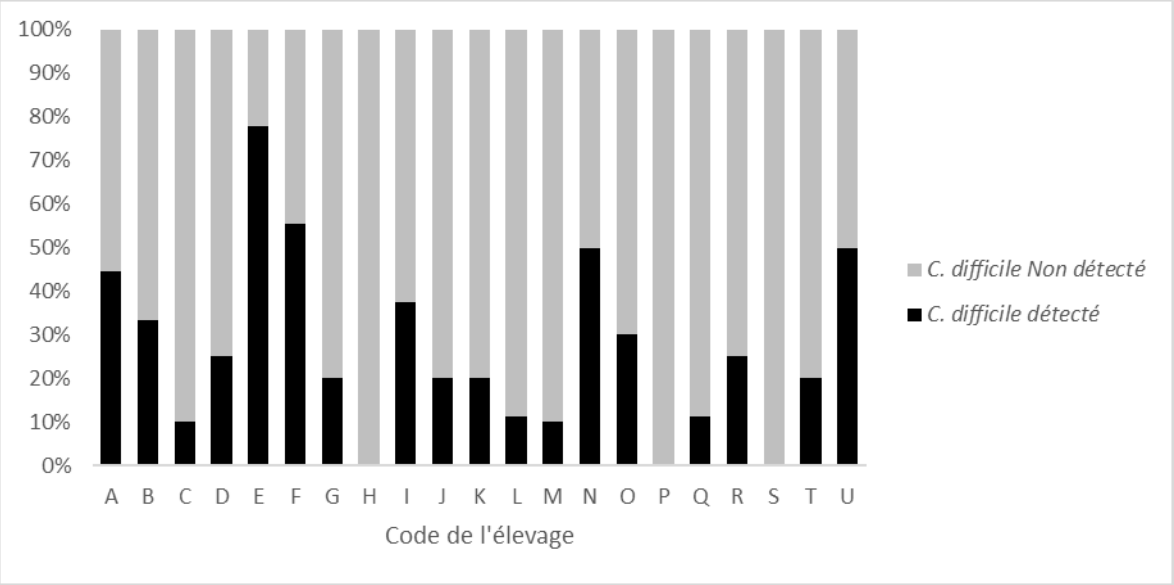


Tableau 1. Résultats de caractérisation d'une sélection de 20 isolats de *C. difficile*
(+ : gène détecté ; - : gène non détecté ; T : gène tronqué ; 0 : pas de délétion dans le gène ; -18 : délétion à la position -18 dans le gène tcdC)

N° isolat	Code élevage	*tox A* [1]	*tox B* [2]	*lok* [3]	*tpi* [4]	Tox Binaire [5]	*tcdC* [6]	PCR Ribotype [7]
343	B	+	+	-	+	T	0	005
346	B	+	+	-	+	T	0	AI-21/0
340	C	+	+	-	+	T	0	005
387	D	+	+	-	+	-	0	481
370	E	+	+	-	+	T	0	087
367	E	+	+	-	+	T	0	087
355	F	+	+	-	+	T	0	446
352	F	+	+	-	+	T	0	452
395	I	+	+	-	+	T	0	001
401	I	+	+	-	+	T	0	FR261*
325	J	+	+	-	+	T	0	087
322	J	+	+	-	+	T	0	087
301	K	+	+	-	+	T	0	020
304	K	+	+	-	+	T	0	020
392	L	+	+	-	+	T	-18	001
337	M	+	+	-	+	T	0	015
310	N	+	+	-	+	+	-18	131
307	N	+	+	-	+	T	0	422
328	O	+	+	-	+	T	0	003
331	O	+	+	-	+	+	-18	131

1 : détection du gène codant pour la toxine A ; 2 : détection du gène codant pour la toxine B ; 3 : détection du gène codant pour *lok* présent chez les souches non toxinogènes ; 4 : détection du gène codant pour la triose phosphate isomérase ; 5 : détection des gènes codant pour la toxine binaire ; 6 : détection du gène codant pour le gène *tcdC,* régulateur des gènes *tcdA* et *tcdB* ; 7 : PCR-Ribotype identifié ; * : nomenclature interne du CNR

EFFET DU STATUT EN VITAMINE D SUR LA CROISSANCE POSTNATALE ET LA QUALITE DE LA VIANDE DE POULET

Cécile Berri[1], Christophe Praud[1], Michel Duclos[1], Agnès Narcy[1], Sophie Réhault-Godbert[1], Thierry Bordeau[1], Estelle Godet[1], Jérémy Bernard[2], Jean-Marc Thoby[3], Vérane Gigaud[3]

[1]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 - NOUZILLY, France
[2]INRAE, PEAT, 37380 - NOUZILLY, France
[3]DSM - Nutritional Products France, Tour Nova, 71 boulevard National, 92 250 La Garenne-Colombes
cecile.berri@inrae.fr

RÉSUMÉ

Le statut en vitamine D, qui dépend en partie de la forme distribuée (vitamine D3 ou 25-OH-D3), peut influencer le développement musculaire et la qualité de la viande de poulet. Notre objectif était d'évaluer l'impact d'une supplémentation par voie maternelle puis alimentaire en vitamine D3 ou 25-OH-D3, sur le statut vitaminique, la croissance et la qualité de la viande de poulet. Deux groupes de reproductrices ont été supplémentées avec de la vitamine D3 (3.200 UI) ou un mix 25-OH-D3 (69-µg)/D3 (440 UI) pendant 2 mois. Les poussins issus de ces deux groupes ont reçu dès l'éclosion soit 5.000 UI de vitamine D3 soit 69-µg 25-OH-D3 + 2.240 UI de vitamine D3. Quatre groupes expérimentaux ont donc été élevés de l'éclosion à 42 jours. A l'éclosion les poussins issus des reproductrices 25-OH-D3 présentaient une [25-OH-D3] plasmatique trois fois plus faible que ceux issus des reproductrices D3. Ils répondaient toutefois mieux à la supplémentation alimentaire en 25-OH-D3 à 6 jours. Au cours de la croissance postnatale, la [25-OH-D3] plasmatique était deux à trois fois plus élevée chez les animaux supplémentés en 25-OH-D3. L'apport de 25-OH-D3 par voie maternelle améliorait la croissance des animaux jusqu'à 21 jours et limitait à 42 jours l'expression dans le muscle de 3 protéines (FN1, NCAM, MYH15) associées aux lésions observées en cas de défauts de *White Striping* et de *Wooden Breast* (nécrose, fibrose, régénération). De manière intéressante, les filets des animaux ayant reçu la forme 25-OH-D3 par voie maternelle et alimentaire présentaient un rendement technologique (saumurage-cuisson) supérieur de 2 points à celui des trois autres groupes. Cette étude indique que le statut en vitamine D des animaux est influencé par l'alimentation maternelle (*via* le jaune d'œuf) et postnatale et qu'il peut avoir des conséquences sur la croissance et la qualité de la viande de poulet.

ABSTRACT
Effect of vitamin D status on chicken growth and breast meat quality
Vitamin D status, which depends in part on the form distributed (vitamin D3 or 25-OH-D3), may influence muscle development and chicken meat quality. Our objective was to evaluate the impact of maternal and dietary supplementation of vitamin D3 or 25-OH-D3 on vitamin status, growth and meat quality. Two groups of female breeders were supplemented with vitamin D3 (3,200 IU) or a 25-OH-D3 (69-µg)/D3 mix (440 IU) for 2 months. The chicks from these two groups received either 5,000 IU of vitamin D3 or 69-µg 25-OH-D3 + 2,240 IU of vitamin D3 at hatching. Four experimental groups were thus raised from hatching to 42 days. At hatching, chicks from 25-OH-D3 breeders had a plasma [25-OH-D3] three times lower than those from D3 breeders. However, they responded better to 25-OH-D3 feed supplementation at day 6. During postnatal growth, plasma [25-OH-D3] was two to three times higher in 25-OH-D3 supplemented animals. Maternal 25-OH-D3 supplementation improved animal growth up to 21 days and limited the expression in muscle of 3 proteins (FN1, NCAM, MYH15) associated with the lesions observed in *White Striping* and Wooden Breast defects (necrosis, fibrosis, regeneration) at 42 days. Interestingly, the breast meat of the animals that received 25-OH-D3 maternally and in the diet had a 2-point higher curing-cooking yield than the other three groups. This study indicates that the vitamin D status of animals is influenced by maternal (*via* egg yolk) and postnatal nutrition and may have consequences for growth and quality of chicken meat.

INTRODUCTION

La source commerciale courante de vitamine D pour l'alimentation des volailles est la vitamine D3 (cholécalciférol). Ce métabolite doit subir des modifications supplémentaires dans le foie pour devenir le 25-hydroxycholécalciférol (25-OH-D3) puis dans le rein pour devenir le 1,25-dihydroxycholécalciférol (1,25-OH-2-D3), considéré comme le principal métabolite actif. Chez le poulet, le premier effet d'un remplacement partiel dans l'aliment de la vitamine D3 par le 25-OH-D3 est d'augmenter la teneur plasmatique en ce métabolite et en calcium (Zhang et al., 2020).

Les conséquences sur le plan phénotypique sont une amélioration des performances en élevage (gain de poids et indice de consommation), de la solidité des os, et une stimulation des réponses immunes, antioxydantes et inflammatoires des poulets (Zhang et al., 2020). Concernant le muscle, l'apport de 25-OH-D3 *via* l'alimentation améliore les rendements en filets, diminue leur teneur en gras, et semble réduire l'incidence du défaut musculaire *White Striping* (WS) à l'abattoir (Gigaud et Thoby, 2019 ; Prokoski et al., 2021). Les effets positifs sur les performances en élevage et les rendements en filets sont aussi observés en cas de supplémentation *in ovo* (Fatemi et al., 2021). Chez le poulet, les effets positifs du 25-OH-D3 sur le développement musculaire semblent impliquer l'activation des cellules satellites (Hutton et al., 2014) et de la biosynthèse des protéines *via* la voie mTOR (Vignale et al., 2017).

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'impact d'un apport en 25-OH-D3 *in ovo* (via la nutrition des reproductrices), puis alimentaire, sur le statut vitaminique des œufs et le développement ultérieur des poulets, incluant des caractéristiques musculaires et de qualité des viandes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositifs expérimentaux

Deux groupes de 100 reproductrices ont été supplémentés avec de la vitamine D3 (3.200 UI) ou avec 69-µg de 25-OH-D3 + 440 UI de vitamine D3 pendant 2 mois. Cinq cents œufs embryonnés par lot ont été collectés sur une première période de 10 jours destinés à mener une étude longitudinale (Dispositif 1). Les poussins mâles issus de ces deux groupes (n=200) ont été répartis en deux lots de 100 et ont reçu dès l'éclosion, soit 5,000 UI de vitamine D3, soit 69-µg de 25-OH-D3 + 2,240 UI de vitamine D3. Les 4 lots ont été élevés de l'éclosion à 35 jours.

Une deuxième collecte similaire à la première a permis la mise en place de deux groupes de 200 poussins (n=200) par lot de reproductrices, qui ont chacun été répartis en deux lots de 100 recevant dès l'éclosion soit 5,000 UI de vitamine D3 soit 69-µg 25-OH-D3 + 2,240 UI de vitamine D3. Les 4 lots ont été élevés de l'éclosion à 42 jours (Dispositif 2).

1.2. Teneurs en vitamine D (dispositif 1)

Les dosages ont été réalisés en utilisant une méthode analytique validée basée sur UHPLC-MSMS (DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) sur le plasma des poules reproductrices, le jaune de leurs œufs (préalablement lyophylisés) et le plasma des descendants à l'éclosion, 6, 9, 21 et 35 jours d'âge (n=12 par lot à chaque fois). Ils ont permis de déterminer les teneurs en vitamine D3, 25-OH-D3 et 24(R),25-(OH)2-D3, qui est un métabolite du 25-OH-D3).

1.3. Paramètres de croissance et de qualité

Tous les animaux ont été pesés à l'éclosion, 6, 21 et 35 jours d'âge (dispositif 1) ou à l'éclosion, 9, 21 et 42 jours (dispositif 2). Sur ce dernier dispositif, le rendement en filets, le pourcentage de gras abdominal, ainsi que plusieurs caractéristiques de qualité du filet, dont le pH ultime, les paramètres de couleur L*, a*, b*, les pertes par exsudation ou après saumurage-cuisson ont été mesurés à 42 jours (Alnahhas et al., 2014). La fréquence et la sévérité des défauts *White Striping* et *Wooden Breast* (WB) ont également été évaluées sur la base d'une notation visuelle (Pampouille et al., 2019).

1.4. Phénotypage histologique du muscle *P. major*

Des prélèvements de muscles ont été réalisés à l'éclosion, 6, 21 et 35 jours d'âge (dispositif 1). Pour les analyses histologiques, des carottes de muscles, prélevées 15 minutes post-mortem parallèlement à l'axe des fibres, ont été congelées dans de l'isopentane refroidi à l'azote liquide, puis stockées à -80°C. Des marquages immunohistochimiques ont été réalisés sur des coupes transversales de 10 µm afin de déterminer la quantité de 3 protéines dont l'expression augmente avec la présence des défauts musculaires WS et WB : la fibronectine 1 (FN1, marqueur de fibrose), la chaine lourde de myosine 15 (MyH15, exprimée majoritairement dans les fibres en régénération) et NCAM, marqueur de nécrose et de régénération (Praud et al., 2020).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Concernant le statut vitaminique, nous n'avons pas observé d'impact de l'apport en 25-OH-D3 sur les teneurs plasmatiques en vitamine D3, 25-OH-D3 et 24(R),25-(OH)2-D3 des poules reproductrices. Ce résultat diffère de précédentes observations, réalisées sur pondeuses (Chen et al 2019 ; Li et al 2021) ou sur reproductrices (Coto et al., 2010), qui avaient montré

une augmentation plasmatique en 25-OH-D3 chez les animaux supplémentés.

Par contre, la [25-OH-D3] était presque doublée dans le jaune d'œuf des poules nourries au 25-OH-D3, tandis que la teneur en D3 était plus de 3 fois supérieure dans ceux issus des poules nourries à la vitamine D3 (**Figure 1**).

De manière surprenante, les poussins issus des reproductrices 25-OH-D3 présentaient à l'éclosion une [25-OH-D3] plasmatique trois fois plus faible que ceux issus des reproductrices D3 (**Figure 2A**). Deux hypothèses peuvent être formulées : soit les embryons n'étaient pas capables de mobiliser la forme 25-OH-D3 *in ovo*, alors qu'ils ont celles de métaboliser la forme D3 (Moriuchi and Deluca, 1974) ; soit ils la métabolisent plus rapidement en 1,25-OH-2-D3, ce qui pourrait expliquer les teneurs plus faibles observées chez ces poussins par rapport à ceux ayant eu accès majoritairement à la vitamine D3 *in ovo*.

Quoiqu'il en soit, nous avons observé que les animaux issus des reproductrices 25-OH-D3 répondaient mieux à une supplémentation alimentaire en 25-OH-D3 avec une [25-OH-D3] plasmatique supérieure à 6 jours par rapport aux poussins issus des reproductrices D3 (**Figure 2B**, Alimentation maternelle × alimentation postnatale, P=0.007).

Au cours de la croissance postnatale, et en accord avec la littérature, la [25-OH-D3] plasmatique était deux à trois fois plus élevée chez les animaux supplémentés en 25-OH-D3 que chez ceux recevant la vitamine D3.

Au niveau phénotypique, l'apport de 25-OH-D3 *via* la mère a stimulé la croissance des descendants jusqu'à 21 jours mais aussi augmenté le pH ultime des filets à l'âge d'abattage (**Figures 3A et B**). Nous avons observé une interaction significative entre alimentation maternelle et postnatale sur le rendement saumurage-cuisson des filets, qui était supérieur d'environ 2 points pour le lot ayant reçu du 25-OH-D3 par les deux voies (**Figure 4A,** Alimentation maternelle × alimentation postnatale, P=0.027).

Concernant le défaut WS, nous observons une tendance à la réduction (de 9 à 3%, P = 0,09) des formes sévères (classe 2) chez les animaux supplémentés en 25-OH-D3 par voie alimentaire (**Figure 4B**). Aucun effet n'a été observé sur le défaut WB. Ces résultats sont cohérents avec de précédents résultats obtenus en abattoir qui montraient une proportion supérieure de muscles indemnes de défaut WS chez les poulets supplémentés en 25-OH-D3 par rapport aux témoins recevant uniquement de la vitamine D3 (63,6% *vs* 49,8%) et pas d'effet sur les défauts WB et *Spaghetti Meat* (Gigaud et Thoby, 2019). La réduction des formes sévères de WS observée à 42 jours était également cohérente avec la réduction significative (P≤0,05) de la quantité des protéines FN1, MyH15 et NCAM observée à 35 jours au niveau musculaire (**Figure 5**). En effet, ces protéines sont des marqueurs des principales lésions impliquées dans les défauts musculaires WS et WB chez le poulet, à savoir la fibrose, la régénérescence et la nécrose des fibres (Praud et al., 2020). La présence moindre de lésions fibrotiques ou régénératives dans les muscles des animaux ayant reçu au cours de leur croissance la forme 25-OH-D3 pourrait en partie expliquer le rendement technologique (saumurage-cuisson) supérieur des poulets 25-OH-D3/25-OH-D3, puisqu'il est maintenant bien établi que la présence des défauts affecte négativement le pouvoir de rétention d'eau de la viande chez le poulet (Petracci et al., 2019). Il est toutefois probable que d'autres facteurs interviennent, comme le pH ultime qui est également augmenté par l'apport maternel en 25-OH-D3, et qui pourrait expliquer pourquoi le rendement technologique du filet est particulièrement amélioré chez les animaux ayant reçu la forme 25-OH-D3 à la fois par la voie maternelle et alimentaire.

CONCLUSION

Cette étude indique que le statut en vitamine D des poulets est influencé par l'alimentation maternelle (*via* le jaune d'œuf) et postnatale. De manière intéressante, nous avons montré que si l'apport en 25-OH-D3 par voie maternelle réduit significativement la teneur plasmatique en ce métabolite des poussins à l'éclosion, il stimule leur réponse à un apport par voie alimentaire post-éclosion et leur croissance jusqu'à 21 jours. L'apport alimentaire en 25-OH-D3 réduit l'expression des marqueurs protéiques des principales lésions rencontrées en cas de défauts musculaires chez le poulet, à savoir la fibrose, la nécrose et la régénérescence des fibres. Ceci se traduit au niveau visuel par une tendance à la réduction des formes sévères de *White Striping*. Enfin, nous observons une interaction positive d'un double apport, maternel et alimentaire, sur le potentiel technologique des filets, avec un rendement saumurage-cuisson nettement plus élevé dans ce cas par rapport aux autres traitements.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alnahhas N. et al., 2014. J. Anim Sci. (92), 3816-3824.
Chen et al., 2019. In 'Eur. Symp. Qual. Poult. Meat', 23-26/06, Çeşme, Turkey. p74.
Coto C. et al., 2010. Int. J. Poult. Sci., (9), 623-633.
Fatemi S.A. et al., 2021. Poult. Sci., (100), 101220.
Gigaud et Thoby, 2019. In 'Eur. Symp. Qual. Poult. Meat', 23-26/06, Çeşme, Turkey. p158.
Hutton K.C. et al., 2014. J. Anim. Sci. (92), 3291-3299.
Li, D et al., 2021. Agriculture (11) 698.
Moriuchi S. et Deluca H.F., 1974. Arch. Biochem. Biophys. (164),165-171.
Pampouille E. et al., 2019. Sci. Rep. (9), 14905.
Petracci M. et al., 2019. Compr. Rev. Food. Sci. Food Saf., (18), 565-583.
Praud C. et al., 2020. Front. Physiol. (11), 633.
Prokoski K., et al., 2021. Animals (Basel). (11), 2971.
Vignale K. et al., 2015. J. Nutr. (145), 855-863.
Zhang L.H. et al., 2020. Poult. Sci. (99), 5663-5672.

Figure 1. Impact de l'apport maternel en D3 ou 25-OH-D3 sur les teneurs en vitamine D3 (A) et 25-OH-D3 (B) dans le jaune d'œufs. *** : P < 0,001.

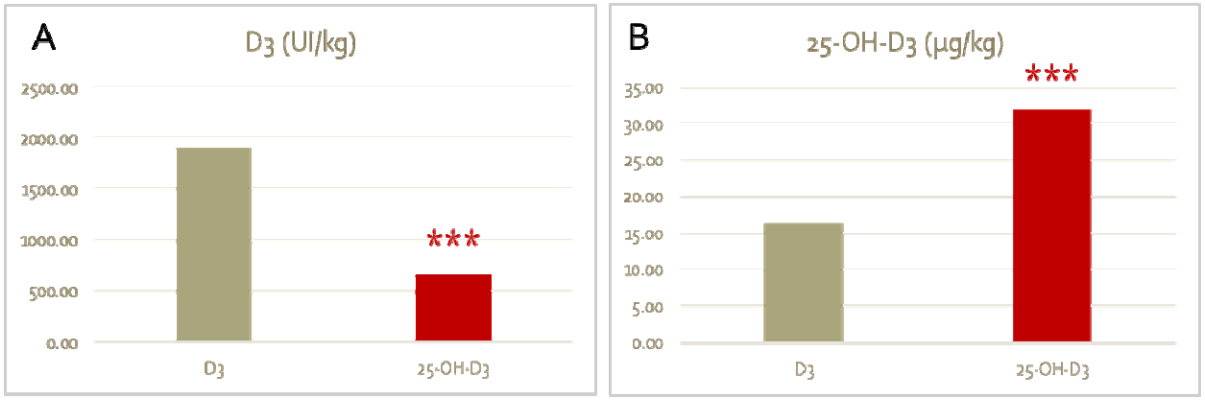


Figure 2. (A) Teneurs plasmatiques en métabolites de la vitamine D chez les poussins issus des reproductrices D3 ou 25-OH-D3 à l'éclosion. (B) Teneurs plasmatiques en 25-OH-D3 (ng/mL) chez les poussins de 6 jours issus des 4 combinaisons mères/poussins d'apport en vitamine D3 ou 25-OH-D3. *** : P < 0,001. [a, b, c] : différences significatives entre lots (P<0,05).

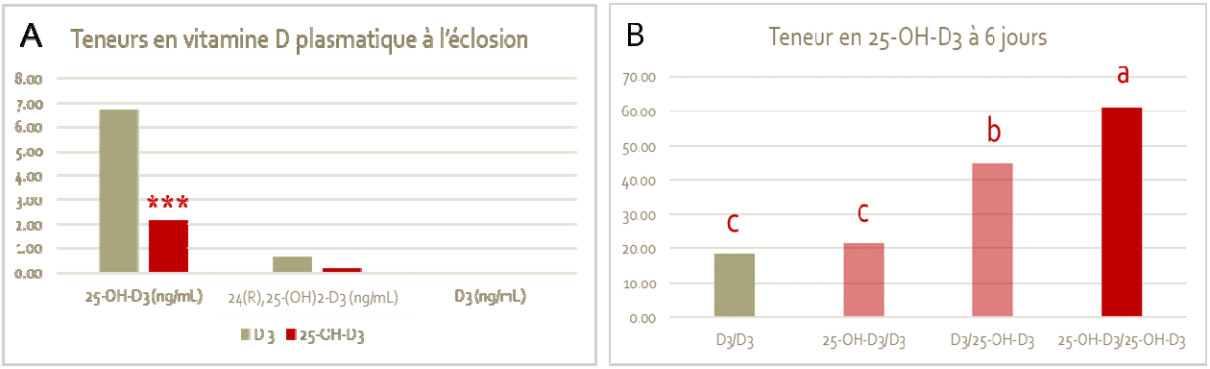


Figure 3. Impact de l'apport maternel en D3 ou 25-OH-D3 sur la croissance précoce des animaux (A) et le pH ultime du filet à 42 jours (B). * : P<0,05 ; ** : P<0,01.

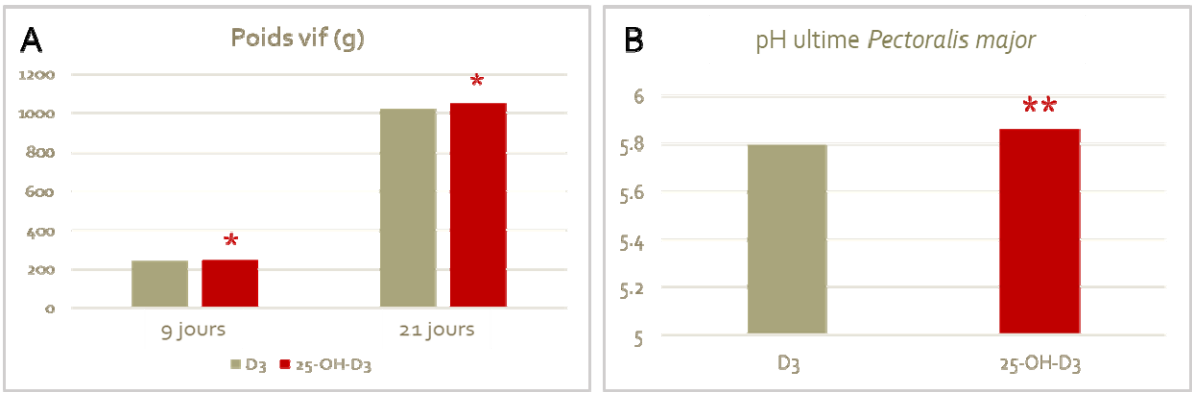


Figure 4. Impact de l'apport maternel et postnatal en D3 ou 25-OH-D3 sur le rendement saumurage-cuisson des filets (A). Fréquence et sévérité du défaut White striping (B). [a,b] : différences significatives entre lots (P<0,05).

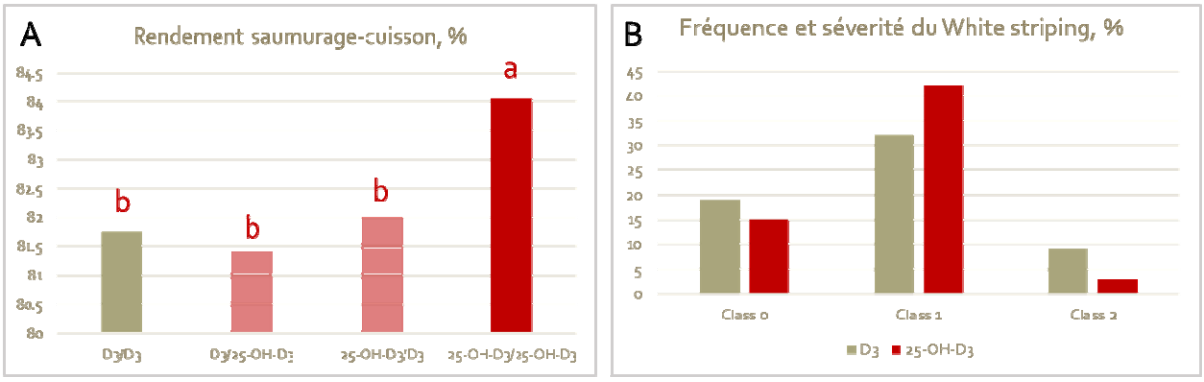
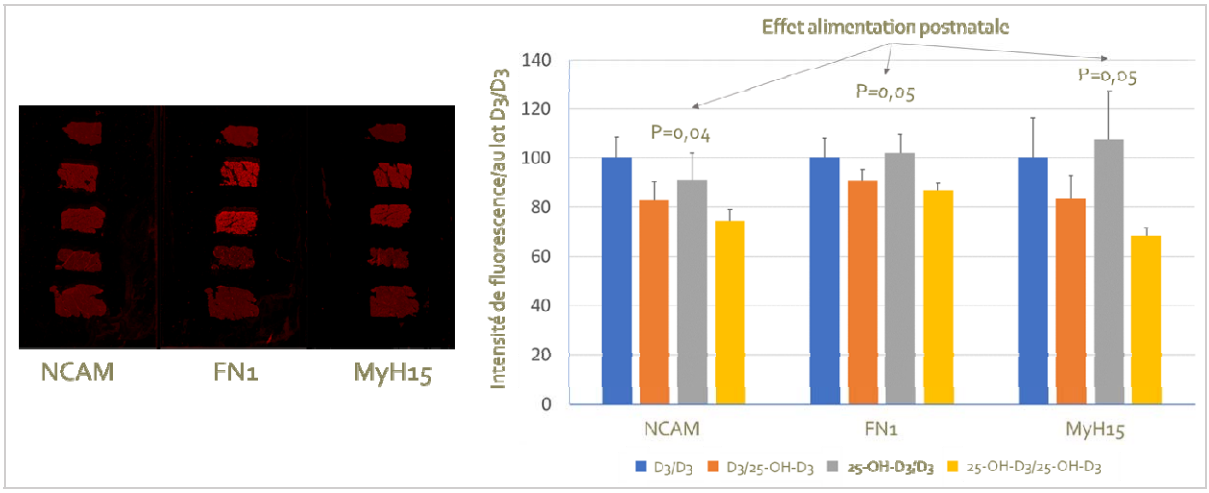


Figure 5. Impact de l'apport maternel et postnatal en D3 ou 25-OH-D3 sur l'expression des protéines FN1, MyH15 et NCAM dans le muscle *Pectoralis major* à J35 (Illustration des marquages immunohistochimiques à gauche).



SESSION
HYGIENE ET QUALITE
DES PRODUITS

Synthèse

QUALITE MICROBIOLOGIQUE DE PRODUITS DE VOLAILLE ET MOYENS DE MAITRISE

Planchon Stella[1], Guillou Sandrine[2]

[1]CTCPA - Site Agroparc – 449 avenue Clément Ader BP21203 – 84911 Avignon,

[2]INRAE, Oniris, SECALIM - Route de Gachet - 44307 NANTES

Courriels auteurs : splanchon@ctcpa.org et sandrine.guillou@inrae.fr

RÉSUMÉ

La qualité microbiologique des produits de volaille (poules, dindes et canards) dépend de nombreux facteurs et en premier lieu de la composition du microbiote du tractus digestif des volailles. La contamination des viandes a lieu au cours de l'abattage à l'occasion d'un transfert vers le muscle, des microorganismes présents en grand nombre dans le tube digestif des animaux abattus et à la surface de la peau de l'animal. La grande majorité des bactéries présentes sur la viande ne sont pas pathogènes et leurs activités métaboliques à l'origine de phénomènes d'altération, limitent considérablement la durée de vie de ces produits. Parmi les bactéries pathogènes, *Campylobacter* et *Salmonella* sont les deux agents pathogènes les plus prévalents des viandes de volaille. Elles sont aussi les deux bactéries responsables du plus grand nombre de zoonoses dans l'Union Européenne. Des études d'appréciation des risques microbiologiques ont permis d'identifier les étapes particulièrement à risque au regard de ces deux pathogènes depuis l'élevage jusqu'au consommateur, et de quantifier l'effet de mesures de maîtrise sur la réduction de ces risques. Les guides de bonnes pratiques hygiéniques, la règlementation, ainsi que l'utilisation de procédés de préservation thermiques ou athermiques, concourent à l'obtention de produits de volailles transformés ou non transformés, sans risque pour le consommateur.

ABSTRACT

The microbiological quality of poultry products (hens, turkeys and ducks) depends on many factors and first of all on the composition of the microbiota of the digestive tract of poultry. Contamination of meat occurs during slaughter when microorganisms present in large numbers in the digestive tract of slaughtered animals and on the surface of the animal's skin are transferred to the muscle. The vast majority of bacteria present on meat are not pathogenic and their metabolic activities, which cause spoilage phenomena, considerably limit the shelf-life of these products. Among pathogenic bacteria, *Campylobacter* and *Salmonella* are the two most prevalent pathogens of poultry meat. They are also the two bacteria responsible for the greatest number of zoonoses in the European Union. Microbiological risk assessment studies have made it possible to identify the stages particularly at risk with regard to these two pathogens, from breeding to the consumer, and to quantify the effect of mitigation measures on the reduction of these risks. Guides to good hygiene practices, regulations, as well as the use of thermal or non-thermal preservation processes, contribute to obtaining processed or unprocessed poultry products without risk to the consumer.

INTRODUCTION

La consommation mondiale de viande de volailles (poulet, dinde, canard) a rapidement augmenté au cours des dernières décennies et devrait encore augmenter au cours de la prochaine (OCDE, 2021). Le poulet représente 75% des viandes de volailles consommées en France, suivi par la dinde (15%) et le canard (7%) (Figure 1). La viande de volaille, deuxième viande la plus consommée en France après la viande de porc, (27,6 kg/hab. en 2019) avec une hausse de 73 % en moins de 40 ans, maintient une bonne place dans les régimes alimentaires et sa consommation reste en constante augmentation, alors que celle des viandes de bœuf et de porc est en déclin (FranceAgriMer, 2020). La maîtrise de la qualité et de la sécurité microbiologiques de ces denrées alimentaires constitue par conséquent un enjeu majeur en termes de santé publique.

1. LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE ET L'ORIGINE DES CONTAMINATIONS MICROBIENNES

1.1. Introduction

La qualité microbiologique des produits de volaille dépend de nombreux facteurs et en premier lieu de la composition du microbiote du tractus digestif des volailles. La composition du microbiote dépend de la génétique de l'hôte et de l'environnement (Broom and Kogut, 2018). Elle va notamment être impactée par l'alimentation que va suivre l'animal au cours de sa croissance (Vasai, 2013).

La contamination des viandes a lieu au cours de l'abattage à l'occasion d'un transfert des microorganismes présents en grand nombre dans le tube digestif des animaux abattus et à la surface de la peau de l'animal. En effet, les étapes de plumaison et d'éviscération ont été identifiées comme les deux étapes clés au niveau de l'abattoir, susceptibles de contaminer les carcasses (Buess et al., 2019). La viande fournit des conditions nutritionnelles et physico-chimiques favorables à la croissance de nombreux microorganismes (levures, moisissures et bactéries). Certains microorganismes dits pathogènes peuvent engendrer des toxi-infections alimentaires comme *Salmonella* spp. ou encore *Campylobacter* spp. Tandis que le métabolisme d'autres microorganismes conduit à des phénomènes d'altération microbiologique au cours de la conservation des produits de volaille. La modification de la couleur, de la texture, l'apparition d'odeurs ou de goûts désagréables rendent le produit impropre à la consommation et conditionnent la durée de vie des produits.

1.2. Le microbiote du tractus gastro-intestinal

Le tractus gastro-intestinal des volailles comprend plusieurs régions qui n'ont pas la même fonction : le jabot (moins développé chez le canard), le proventricule, le gésier, le duodénum, le jéjunum, l'iléon, les caeca (plus petits chez le canard), le gros intestin (« colorectum ») et le cloaque (Figure 2).

Le microbiome des poulets de chair n'a pas la même composition en fonction de ces régions anatomiques et il n'y règne pas les mêmes conditions. Les lactobacilles prédominent dans le jabot et assurent la décomposition de l'amidon et la fermentation du lactate. Des espèces de *Clostridium* sont également présentes dans cette région. Le gésier est également dominé par les *Clostridium* et les *Lactobacillus*. Cependant, la principale différence entre les deux organes est la présence dans le gésier, de jus gastriques, de pepsine et d'acide chlorhydrique qui acidifient le milieu et limitent le nombre de bactéries et les activités fermentaires. L'intestin grêle a la plus forte concentration de cellules bactériennes, principalement *Lactobacillus, Enterococcus* et diverses *Clostridiaceae; Lactobacillus* est le genre dominant. Les caeca hébergent en plus grand nombre des bactéries anaérobies strictes. Les caeca sont les organes avec la plus grande abondance et diversité taxonomique du fait que cet organe retient la nourriture pendant la plus longue période (12 à 20 h). La présence dans les caeca d'hydrogénase, qui semble stimuler la production d'acides gras à chaîne courte, est corrélée à la présence de micro-organismes abondants (*Megamonas, Helicobacter* et *Campylobacter*) (Anses, 2018b; Oakley et al., 2014).

Les données de microbiote sont plus abondantes pour les volailles de type poulet et dinde que pour le canard. Dans les microbiotes de poulets et de dinde, cent dix-sept et soixante-neuf genres appartenant à treize phyla, ont été recensés respectivement (Wei et al., 2013). Les phyla dominants sont les Firmicutes, *Bacteroides*, et *Proteobacteria* et les genres dominants sont *Clostridium, Ruminococcus, Lactobacillus,* et *Bacteroidetes*, avec une distribution cependant différente entre le poulet et la dinde. Le genre bactérien dominant du microbiote du poulet est *Lactobacillus,* principalement dans le jabot et le gésier (Marmion et al., 2021). Par ailleurs, la composition des microbiotes varie tout au long de la vie des poulets, et davantage durant les premières semaines de vie correspondant aux étapes de colonisation (Kers et al., 2018). Le microbiote est d'abord dominé par des protéobactéries dans les premiers stades de la vie des poussins puis au moment de l'abattage, ce sont les Firmicutes qui dominent dans une proportion d'environ 70-80% (Marmion et al., 2021). La concentration des caeca peut atteindre 10^{11} cellules par gramme (Broom et al., 2018). Le microbiote intestinal des poulets de chair héberge également des bactéries pathogènes qui peuvent poser des problèmes

de santé publique vétérinaire et humaine. Parmi les pathogènes responsables de toxi-infections humaines, on compte *Campylobacter* (principalement *Campylobacter jejuni et Campylobacter coli), Salmonella, Escherichia coli* et *Clostridium perfringens* (Oakley et al., 2014). La concentration en *Campylobacter* dans le tractus digestif des volailles peut atteindre 10^7 UFC/g mais il est généralement asymptomatique pour les oiseaux. Ce n'est pas le cas de *Salmonella enterica* qui peut provoquer des maladies chez les poulets, selon l'âge, le statut immunitaire et le sérovar (Clavijo and Flórez, 2018). La contamination par *Salmonella* peut se faire via l'alimentation, l'eau et par l'Homme (bottes et outils) (Machado Junior et al., 2020).

L'environnement microaérobie créé dans la muqueuse du tractus gastro-intestnal contribue à la survie des espèces microaérobies, telles que *Campylobacter* spp., (Zhang et al., 2018). De manière générale, le microbiote des poulets de chair dépend de nombreux facteurs (Figure 3) : des conditions climatiques, du mode d'élevage (plein-air ou confinés), de la densité des troupeaux, de l'accès des animaux à l'extérieur et potentiellement de leur exposition à des vecteurs sauvages, de la nature de la litière, des pratiques agricoles, et globalement de tous les facteurs susceptibles d'affecter le bien-être animal et générer un stress. La localisation géographique influence le microbiome du fait du climat et de l'exposition à la faune sauvage (Shi et al., 2019). Les saisons ont également une influence sur la composition du microbiome du fait de la prolifération de certaines espèces de bactéries et de la présence plus importante de vecteurs de contamination comme les mouches. Des pics saisonniers caractéristiques de *Campylobacter* sont notamment observés en été (Duqué et al., 2018). Le stress des poulets dû aux températures élevées conduit également à des niveaux plus élevés de *Salmonella* (Marmion et al., 2021). Le microbiote peut également varier en fonction des lignées génétiques des poulets (Kers et al., 2018). Plusieurs études ont également reporté une influence du sexe et du génotype des poulets de chair sur la composition de leur microbiote, avec une influence notamment sur les espèces de *Lactobacillus* (Kers et al., 2018; Zhao et al., 2013).

Le régime alimentaire a un impact très important sur le microbiote intestinal en termes de diversité et de composition pour les poulets (Anses, 2018b; Borda-Molina et al., 2018; Haberecht et al., 2020). Il est généralement à base de céréales et peu digeste, ce qui favorise les microorganismes qui peuvent utiliser les nutriments disponibles dans le tractus digestif, comme les céréales diététiques avec différents niveaux d'arabinoxylanes (Borda-Molina et al., 2018).

Chez le canard, l'étape de gavage (à base de maïs principalement), réalisé à onze semaines de vie, a également un impact sur l'évolution de la flore intestinale (Vasai, 2013). Les auteurs ont montré que le gavage augmentait la concentration en *Clostridiaceae, Lactobacillaceae, Streptococaceae* et *Enterococaceae* dans l'iléon tandis que les *Lachnospiraceae, Bacteroidia* et *Desulfovibrio* augmentaient dans les caeca. De même, l'utilisation de probiotiques de type *Lactobacillus sakei* impactait fortement la flore au niveau de l'iléon mais pas des caeca (Vasai et al., 2014).

1.3. Influence du transport

Préalablement au transport, la nourriture des animaux est retirée pour limiter leur défécation et la contamination des poulets dans les cages de transport par leurs matières fécales. Cette pratique peut permettre de limiter la contamination des poulets lors de l'étape d'éviscération, si malencontreusement, les contenus digestifs étaient percés. Cependant, si les durées de jeûne sont supérieures à douze heures, on observe des risques de détérioration de l'état et de l'intégrité des viscères et une augmentation de la fluidité du contenu gastro-intestinal, et ainsi un risque accru de contamination fécale des carcasses (Anses, 2018b).

L'étape de transport est relativement stressante pour les animaux d'autant plus qu'ils sont entassés et soumis à des températures élevées. Ce stress favorise la sécrétion d'hormones de stress et de corticostérone qui induisent des modifications du comportement en augmentant le picage, la défécation et en réduisant les fonctions gastro-intestinales (Afnor, 2018; Marmion et al., 2021). Les caisses de transport présentent des anfractuosités favorables à l'accumulation de souillures difficiles à nettoyer et susceptibles de favoriser la formation de biofilms de *Campylobacter* (Anses, 2018b).

1.4. Influence de l'abattage

L'abattage comprend plusieurs étapes : l'étourdissement, la saignée, l'échaudage, la plumaison, l'éviscération et le ressuage. L'étape de saignée a été identifiée comme une étape critique responsable de la plus forte contamination de *Salmonella* (Boubendir et al., 2020; Rivera-Pérez et al., 2014). L'humidité produite par les jets de nettoyage haute pression crée des conditions favorables à la dissémination et la survie de bactéries altérantes, notamment les bactéries lactiques présentes dans ces aérosols (Samapundo et al., 2019).

Lors de **l'échaudage**, les carcasses sont plongées dans un bain d'eau chaude à une température d'environ 52-54°C pour les poulets de chair et 63°C pour les canards. Cette étape facilite la plumaison. Elle a été identifiée comme étape critique car elle favorise les contaminations croisées (Rothrock et al., 2016). La température de l'échaudage relativement élevée permettrait de réduire le niveau de

contamination par *Campylobacter* (Guerin et al., 2010; Pacholewicz et al., 2015).

La plumaison se fait dans la plupart des installations de manière mécanique à l'aide de doigts en caoutchouc rigide qui peuvent servir de vecteurs de contamination des microorganismes présents dans les matières fécales, la poussière et les souillures des plumes, notamment *Campylobacter*. Les doigts des plumeuses peuvent être difficiles à nettoyer par leur configuration en doigts dentelés et être une source de contamination, notamment de *Staphylococcus* spp. et particulier du pathogène *S. aureus* ((DGAL [Direction de l'Information Légale et Administrative], 2010). Des cires de plumaisons peuvent être utilisées également en combinaison ou non avec les doigts mécaniques pour la plumaison des canards. Utilisée en surfusion à des températures de 70-80°C pour réduire les risques microbiologiques (excepté pour les spores bactériennes), elle est ensuite retirée mécaniquement ou manuellement, puis refroidie. Les dernières plumes peuvent être enlevées manuellement ou à l'aide d'une étape de flambage pour le canard. Cette étape peut impacter la peau des volailles (rétractation) mais permet une décontamination non négligeable de la surface des carcasses. La plumaison est considérée comme le premier des deux principaux points de contamination bactérienne des carcasses, la seconde étant l'éviscération (Anses, 2018b; Guerin et al., 2010). Les aérosols formés lors de cette étape par l'utilisation de jets d'eau pour éliminer les plumes en continu, favorisent également la contamination par *Campylobacter* (Anses, 2018b). La contamination croisée des carcasses par *Campylobacter* durant l'étape de plumaison a été modélisée par Hartnett et al. (2001) et illustrée par Hayama et al. (2011). Ae Kim et al. (2017) ont également identifié cette étape comme responsable de l'augmentation de la prévalence des carcasses en *Campylobacter* et en *Salmonella.*

L'éviscération est l'étape susceptible de contaminer le plus les carcasses du fait du risque de perforation des contenus digestifs. C'est une étape critique au regard du risque de contamination par *Salmonella* (Rivera-Pérez et al., 2014) et *Campylobacter* (Anses, 2018b; Guerin et al., 2010; Seliwiorstow et al., 2016). *Campylobacter* peut également être transmis lors de cette étape par contamination croisée, entre carcasses et entre carcasses et l'environnement, notamment via les surfaces et les équipements (Nauta et al., 2005). La présence de microorganismes d'altération peut aussi poser un problème lors de la conservation des foies/abats qu'ils soient utilisés en frais (cas de *Pseudomonas, Brochothrix*) ou traités thermiquement (sporulés d'altération, § 2.2).

Après l'éviscération (foies, viscères, cœurs et gésiers), des **lavages** internes et externes de la carcasse sont souvent effectués pour éliminer les souillures, débris organiques et résidus liés à l'éviscération (FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization], 2009b; Marmion et al., 2021).

Immédiatement après l'éviscération, les carcasses doivent subir un refroidissement rapide par air ventilé froid, **le ressuage.** Il est souvent associé à une ou plusieurs pulvérisations d'eau pour faciliter le refroidissement par évaporation de l'eau en surface des carcasses mais aussi pour éviter une perte de poids excessive lors de cette étape (FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization], 2009b). C'est une étape critique car elle peut permettre la réduction des concentrations en *Campylobacter* et en psychrotrophes aérobies et donc potentiellement en bactéries altérantes et pathogènes (Ae Kim et al., 2017). Le refroidissement par air peut permettre de réduire les concentrations d'*E. coli* et de coliformes des carcasses de 0,9 unité log, 1,4 log UFC/ml de *Campylobacter* et 1 log UFC/ml de *Salmonella* (Huezo et al., 2007). La diminution du niveau de contamination de *Campylobacter* serait due à l'effet desséchant de l'air (Pacholewicz et al., 2015). L'étape de ressuage a également été identifiée comme une étape de contamination du fait de phénomènes de condensation sur les murs par des bactéries lactiques psychrophiles, *Pseudomonas* et *Listeria* spp., bactéries pathogènes (Chen et al., 2020; Marmion et al., 2021). Le ressuage en bain d'eau froide n'est pas autorisé en Europe, excepté pour les produits destinés à une exportation en dehors de l'Europe.

1.5. Influence du procédé de transformation

Les produits sont ensuite commercialisés sous différentes formes : carcasses entières ou découpes, produits transformés. Ils peuvent être conditionnés en vrac, sous skin, ou sous atmosphère protectrice. Le type de conditionnement jouera un rôle sur la composition du microbiote du produit fini (cf. 2.1 et 2.2).

2. LES RISQUES MICROBIOLOGIQUES PATHOGENES ET D'ALTERATION

2.1. Les risques pathogènes

Largement sous-estimé, le fardeau des maladies d'origine alimentaire est un problème de santé publique au niveau mondial, avec environ 600 millions de cas et 420 000 décès chaque année, dans le monde (World Health Organization, 2015). ***Campylobacter* et *Salmonella*** se situent dans le top 3 des agents pathogènes responsables de la plus grande charge de morbidité associée à la consommation de denrées d'origine animale, avec une perte de 27 DALYs (Disability-Adjusted Life Years) pour 100 000 habitants, dont 13 associés à la consommation de

viande de volaille pour *Campylobacter*, et 49 DALYs pour 100 000 habitants, dont 17 associés à la viande de volaille, pour *Salmonella* (Li et al., 2019) (Figure 4).

Dans l'Union européenne (UE), *Campylobacter* a été signalé comme la cause principale de zoonoses (alimentaires ou non) au cours des dix dernières années (EFSA and ECDC, 2019). La campylobactériose associée à une infection à *Campylobacter*, se caractérise par une diarrhée, des crampes abdominales et de la fièvre. Dans de rares cas, ces symptômes sont suivis de complications comme les syndromes de Guillain-Barré et de Miller-Fischer (Nachamkin et al., 1998). En termes de prévalence, en France, en 2008, 72% des élevages de poulets de chair étaient positifs à *Campylobacter* dont 40.5% pour *C. jejuni* et 29.8% pour *C. coli* (Allain et al., 2014). En 2010, 88% des carcasses de poulet de chair étaient positives à *Campylobacter* (EFSA, 2010; Hue et al., 2010).

La viande de poulet de chair et le lait représentent les deux causes les plus fréquemment associées aux cas de campylobactériose d'origine alimentaire en Europe entre 2010 et 2018 (EFSA et al., 2019). Les foyers à *Campylobacter* concernent majoritairement la volaille (52 % entre 2006 et 2015 et 40% en 2019) (Anses, 2018a ; Santé Publique France, 2020a). Dans plusieurs pays, le couple *Campylobacter* spp.- volaille est le couple pathogène - aliment qui a le plus d'impact sur les systèmes économiques et de santé avec 608 237 malades, 6 091 hospitalisations et 55 décès (Anses, 2020 ; Batz et al., 2012).

Salmonella constitue la seconde cause de zoonoses au cours des dix dernières années dans l'UE (EFSA et al., 2019). Les foyers de salmonellose sont le plus souvent associés à la catégorie des œufs et des ovoproduits (45.8%), la viande de volaille ne représentant que 8.0 % entre 2006 et 2015 et 2% en 2020 des foyers (Anses, 2018a; Santé Publique France, 2020b). Le couple *Salmonella enterica* – volaille se situe au rang 4 du classement des combinaisons pathogène – aliment qui ont le plus d'impact sur les systèmes économiques et de santé, avec 215 109 malades, 4 048 hospitalisations et 79 décès (Anses, 2020 ; Batz et al., 2012). En termes de prévalence, en 2005-2006, 8.6% des élevage de poulet étaient positifs à *Salmonella* en France (Le Bouquin et al., 2010). En 2010, 7.4% des carcasses de poulet de chair étaient positives à *Salmonella* (EFSA, 2010; Hue et al., 2010). Au sein de l'espèce *Salmonella enterica*, des sérotypes sont spécifiques et adaptés à une seule ou à quelques espèces animales seulement, par exemple *Salmonella enterica* sérotype Dublin chez les bovins et *Salmonella enterica* sérotype Choleraesuis chez le porc. Deux sérotypes de *Salmonella enterica* sont reconnus comme des pathogènes alimentaires : *Salmonella enterica* sérotype Enteritidis et *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium. *Salmonella* spp a été responsable de 43% des TIAC en France en 2020 (Santé Publique France, 2020b).

D'un point de vue quantitatif, *Campylobacter* et *Salmonella* sont par conséquent les deux agents pathogènes les plus prévalents des viandes de volaille (Mead, 2004). Cinq autres agents bactériens pathogènes également répertoriés chez la volaille : *Clostridium perfringens, Clostridium botulinum* type C/D, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* O157 (Anses, 2021a; Fries-Craft et al., 2021; Marmion et al., 2021; Mead, 2004; Souillard et al., 2021). La plupart de ces agents pathogènes sont résidents du tube digestif des volailles, excepté *S. aureus* qui se trouve sur les lésions de la peau et le tractus respiratoire des volailles. La prévalence de *L. monocytogenes* dans les troupeaux de volaille est assez élevée (32%) (Chemaly et al., 2008) mais les études relatives à *L. monocytogenes* reposent beaucoup sur les contaminations au cours des étapes de transformation et le lien est rarement fait avec la production primaire pour expliquer la persistance de *L. monocytogenes* sur les produits transformés du fait de son caractère ubiquitaire dans différents types d'environnements alimentaires (Rothrock et al., 2017).

2.2. Les risques d'altération

On insiste plus souvent sur la présence de bactéries pathogènes, mais l'immense majorité des bactéries qui composent le microbiote de la viande de volaille ne sont pas pathogènes. Certaines bactéries sont responsables de phénomènes d'altération. Le métabolisme de ces bactéries induit des modifications de couleur, d'odeurs, de texture indésirables, qui limitent la durée de vie des produits. L'origine de la contamination de la viande de volaille peut être multiple. Le tractus digestif des volailles constitue une de ces sources (cf. 1.2). L'ensemble des étapes de transformation depuis l'abattage jusqu'aux étapes de découpes peut constituer des sources de contamination par l'air et l'environnement de l'usine, les machines et les personnels.

Ainsi le microbiote initial de la viande de volaille comprend généralement les bactéries des genres *Pseudomonas, Acinetobacter* et *Lactobacillus, Brochothrix thermosphacta* et les *Enterobacteriaceae,* (Marmion et al., 2021). On retrouve aussi fréquemment *Shewanella putrefasciens* sur les carcasses de poulets de chair (Hinton et al., 2004 ; Li et al., 2020). Au sein des Entérobactéries, les principaux genres sont *Hafnia* (*Hafnia alvei, Hafnia paralvei*), *Serratia* (*Serratia fonticola, Serratia grimesii, Serratia liquefaciens, Serratia proteamaculans,* et *Serratia quinivorans*), *Rahnella*, *Yersinia*, et *Buttiauxella* (Rouger et al., 2017 ; Säde et al., 2013). Ce sont ensuite les conditions de stockage (température, type de conditionnement et atmosphère d'emballage), qui vont influencer la composition du

microbiote du produit fini. *Pseudomonas* est généralement présent lorsque la viande est stockée en présence d'oxygène (Li et al., 2020 ; Mead, 2004; Rouger et al., 2017). La présence de dioxyde de carbone dans les atmosphères protectrices inhibe le développement des *Pseudomonas* et est plus favorable aux bactéries lactiques (Mead, 2004; Rouger et al., 2017). *Br. thermosphacta* est très souvent associé à la flore dominante des produits carnés réfrigérés car il a la possibilité de se multiplier à la fois en présence d'oxygène et sous vide (Casaburi et al., 2014).

Concernant la viande de canard, la découpe est entièrement manuelle et se réalise par une succession d'opérateurs à l'aide de matériels spécifiques. Pour la viande de canard non transformée et le foie gras cru, les principales bactéries d'altération sont les Entérobactéries et les bactéries lactiques. Ces flores prédominent à l'abattage, notamment sur les foies après éviscération (Planchon et al., 2018). Ces bactéries végétatives ne sont plus retrouvées dans le foie gras pasteurisé après un traitement thermique supérieur à 40 minutes à 70°C (ou un traitement équivalent). Elles laissent la place aux bactéries sporulées dont certaines peuvent entrainer des pertes économiques importantes. Ces bactéries sporulées appartiennent principalement au genre *Clostridium* avec deux espèces plus fréquemment isolées : *Clostridium bowmanii et Clostridum algidicarnis* (Planchon et al., 2021). Ces espèces sont responsables d'odeurs de putréfaction et/ou de noircissement de produits durant leur conservation à basse température.

Le foie gras pasteurisé peut être reconditionné (en tranches), et cette opération de conditionnement, est réalisée dans des salles « propres ». Néanmoins, une flore lactique peut se développer tout au long de la conservation des foies gras et limiter la date limite de consommation (DLC) du fait de l'apparition de défauts organoleptiques et d'odeurs acides (Matamoros et al., 2010).

Pour les produits de canard transformés (confit de canard, foie gras stérilisé), des flores sporulées appartenant principalement au genre *Clostridium* ont été identifiées (André, 2015). D'autres flores sporulées comme *Bacillus coagulans* et *Thermoanaero-bacterium* spp ont également été isolées dans des produits altérés. Ces flores sporulées ne sont pas détruites lors des traitements thermiques utilisés par la profession à cause de leur importante résistance thermique.

3. LES MOYENS DE MAITRISE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE

Pour évaluer les risques associés à la présence de dangers bactériens dans les aliments et évaluer les mesures de maîtrise qui permettraient de réduire ces risques, l'Appréciation Quantitative des Risques Microbiologiques (AQRM) est la méthode de choix. Il s'agit d'une approche structurée qui permet d'estimer la probabilité d'être malade en fonction de la quantité d'aliments ingérée. Elle consiste à déterminer le niveau de contamination d'agents pathogènes comme *Campylobacter* ou *Salmonella*, à chaque étape de la chaîne de transformation des aliments, depuis la production à la ferme jusqu'aux étapes de transformation du produit fini. Cette quantification permet d'identifier les étapes particulièrement à risques en termes de contamination ou de croissance bactérienne, et de quantifier l'efficacité de mesures d'intervention ou de maîtrise sur la réduction du risque en nombre de cas de maladie. Khalid et al. (2020) ont recensé les études d'AQRM relatives à *Campylobacter* et *Salmonella* dans la filière volaille. Cette revue comprend notamment l'AQRM de l'EFSA sur *Campylobacter*, basée sur les données de quatre pays et une AQRM effectuée par le groupe d'experts BioRisk de l'Anses, pour évaluer les risques et l'efficacité de mesures de maîtrise relatifs au danger *Campylobacter* dans la filière volaille (Anses, 2018b ; EFSA, 2011). Inspirés par ces différentes études, des recommandations et des guides de bonnes pratiques ont été rédigés. La maitrise de la qualité microbiologique des produits finis réside principalement dans **l'utilisation de bonnes pratiques d'hygiène** (Règlement (CE) n°178/2002 du Paquet Hygiène) tout au long de la chaine, depuis l'élevage jusqu'au conditionnement du produit fini (Afssa, 2008; Afssa, 2009 ; CIFOG [Comité Interprofessionnel des Palmipèdes à Foie Gras], 2016; DGAL [Direction de l'Information Légale et Administrative], 2010). Un guide du Codex Alimentarius a également été rédigé en 2011 pour le contrôle de *Campylobacter* et de *Salmonella* dans la viande de poulet de chair (FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization], 2009a). Des guides ont également été rédigés aux Etats Unis (FSIS/USDA [Food Safety and Inspection Service], 2021a; FSIS/USDA [Food Safety and Inspection Service], 2021b).

En premier lieu, les moyens de maîtrise doivent être appliqués à la ferme au niveau de l'élevage pour réduire le portage des agents pathogènes par les animaux vivants, principalement *Campylobacter* et *Salmonella*, notamment en contrôlant les facteurs qui favorisent la transmission verticale et horizontale des pathogènes durant la production des œufs, l'éclosion et la croissance, qui réduisent sensiblement la prévalence de ces pathogènes sur les carcasses (International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 2011). Les règles d'hygiène ainsi que le bien-être animal dans les élevages sont strictement règlementés (Directive 98/58/CE) et font l'objet d'un projet de Guide de Bonnes Pratiques de protection animale en abattoirs volaille (Anses, 2021c).

L'AQRM réalisée par l'EFSA indique que la maîtrise de *Campylobacter* au niveau de la production primaire est susceptible d'avoir plus d'impact sur la réduction du risque que des mesures appliquées à des stades plus avancés de la chaîne (EFSA, 2011). L'élevage est en effet la première source de contamination. Les premiers moyens de maîtrise consistent donc d'abord à réduire le portage des animaux vivants. Les mesures susceptibles d'être les plus efficaces sont les mesures de biosécurité (Arrêté Biosécurité du 29 septembre 2021), et la mise en place d'écrans de protection vis-à-vis des mouches, la limitation de l'âge d'abattage des poulets à 28 jours en intérieur, et le détassage discontinu (EFSA, 2011). Les actions de biosécurité visent à prévenir l'introduction d'agents pathogènes : **bio-exclusion**, et la diffusion des maladies déjà présentes dans l'élevage : **bio-confinement** (Zeghar, 2019). Une partie des mesures de biosécurité concerne l'hygiène des bâtiments, des litières, de la nourriture, des cages… L'Anses et l'EFSA indiquent que si la concentration en *Campylobacter* des intestins pouvait être abaissée de 2.5 ou 3 log à l'abattoir, cela permettrait de réduire le risque de campylobactériose d'environ 90% (Anses, 2018b; EFSA, 2011). Les études sur l'utilisation d'additifs (liste réglementée par le Règlement (CE) n° 1831/2003) dans l'eau ou l'alimentation, sur la vaccination (tentatives réalisées par l'Anses (Meunier et al., 2016)), ou sur l'administration de bactériocines ou de bactériophages, sont donc à poursuivre. A noter que l'usage de vaccins inactivés est possible aujourd'hui pour réduire le risque lié aux salmonelles chez les poulets et les dindes de chair (Arrêté du 26 février 2008) mais le dépistage reste préconisé (EFSA, 2004).

Certaines contaminations sont plus difficiles à contrôler en élevage en plein air, notamment celles issues de l'environnement extérieur apportées principalement par les oiseaux migrateurs. La **surveillance quotidienne** des troupeaux doit être réalisée conjointement par les vétérinaires, les éleveurs et les techniciens vétérinaires et reste de mise afin d'identifier l'apparition de signes cliniques atypiques et écarter les animaux malades. Une **visite sanitaire** doit être réalisée tous les deux ans dans les élevages de plus de 250 volailles (Instruction technique DGA/SDSPA/2020-564 et Règlement (UE) 2016/429). Spécifiquement pour la maîtrise des salmonelles, depuis le 1er janvier 2006, une **fiche d'Identification de la Chaîne Alimentaire** (ICA) spécifiant les critères d'alerte à rechercher et à notifier aux services vétérinaires, a été mise en place (Note de services DGAL/SDSSA/N2012-8167 ; Règlements (CE) n°2160/2003 et N°646/2007). La fiche ICA remplie sous la responsabilité de l'éleveur, doit être transmise au moins 24 heures avant l'arrivée du lot à l'abattoir et est valable cinq jours. Ce document essentiel au contrôle *ante mortem* des lots d'animaux, reprend un certain nombre d'informations relatives aux analyses de salmonelles et au bien-être animal. Cinq serovars de salmonelles font l'objet d'un dépistage obligatoire : Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Infantis et Virchow (Arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella*). Si un des critères de l'ICA est en alerte, l'abatteur doit demander l'expertise des services vétérinaires d'inspection (SVI). Pour éviter la contamination des autres lots lors du transfert des contenus digestifs, l'abattage des lots positifs aux salmonelles est généralement effectué en fin de chaîne et les abats à l'exception du cœur des volailles issues d'un troupeau confirmé infecté sont déclassés comme des sous-produits animaux (Arrêté du 26 février 2008).

La deuxième source de contamination a lieu lors du transport, les animaux sont rassemblés dans des caisses souillées par des excréments et elles sont superposées dans des camions. Le retrait de nourriture à la ferme permet de réaliser un jeûne susceptible de favoriser la clairance du tractus gastro-intestinal (Seliwiorstow et al., 2016). La durée de mise à jeun est obligatoirement inférieure à 12h (Règlement (CE) n°1/2005). La durée optimale du jeûne au regard du risque, semble varier selon les auteurs : de 9 – 12h (Northcutt et al., 1997) à 6 heures seulement (Xue et al., 2021). L'étude Anses a attribué une réduction marginale du risque de campylobactériose (moins de 5%) à une optimisation de la durée du jeûne (Anses, 2018b). Depuis la grippe aviaire, un lavage et une désinfection des caisses et des camions est systématique pour les élevages de volailles et de palmipèdes (CIFOG [Comité Interprofessionnel des Palmipèdes à Foie Gras], 2018; Consortium du projet des guides pour le Transport des animaux, 2017).

Au niveau de l'abattoir, l'étude EFSA indique que si la concentration en *Campylobacter* des carcasses au niveau de l'abattoir, pouvait être abaissée d'1 log, cela permettrait de réduire le risque de campylobactériose entre 50% et 90% (EFSA, 2011). Cependant l'efficacité des mesures d'hygiène est difficile à quantifier. Plusieurs options de décontamination des carcasses vraisemblablement en post-ressuage, sont évoquées dans ce rapport, notamment le recours à une décontamination à l'eau additionnée d'agents chimiques actuellement non autorisés en UE, ou avec de l'eau à 80°C pendant 20 s, une congélation de plusieurs semaines, une congélation de surface ou « croutage », et l'utilisation de méthodes à ultrasons et / ou vapeur, dont l'efficacité reste à évaluer. Aux Etats unis, la décontamination des carcasses au chlore est autorisée mais pas en Europe. Pour les produits à base de volaille transformés, un procédé permettant de réduire 7 log UFC/g de *Salmonella* spp. est requis pour la sécurisation des produits dans la règlementation américaine.

Si on s'en tient aux étapes existantes du procédé d'abattage en Europe, la plumaison réalisée mécaniquement peut entraîner une augmentation de la contamination des carcasses par les doigts des

plumeuses par l'intermédiaire des souillures ou par les aérosols produits. Des mesures de maîtrise mises en place à cette étape, permettant de réduire de 10% la contamination fécale des carcasses, réduiraient le risque de campylobactériose de 4% (Anses, 2018b).

L'éviscération des poulets de chair est effectuée mécaniquement dans une grande majorité des abattoirs. Ce n'est pas le cas de l'espèce canard. Il s'agit de l'étape la plus à risques en termes de contamination, en raison de la perforation possible des viscères. Lorsque l'éviscération est mécanique, les mesures de maîtrise consistent à réaliser un réglage minutieux des machines, à s'assurer d'avoir des carcasses homogènes en taille, et à surveiller les « accidents » d'éviscération (souillures visibles, chapelet de viscères incomplet, *etc.*). La prévention de 10% de ces accidents pourrait permettre de réduire le risque de campylobactériose de seulement 3% selon l'étude Anses (Anses, 2018b). Lors de l'étape d'éviscération, les viscères (foie, cœur, gésier), la trachée, le jabot et les poumons sont extraits de la carcasse. Lors de l'éviscération des palmipèdes à foie gras, les foies sont retirés en premier manuellement puis classés. Les foies « contaminés » par du contenu intestinal doivent faire l'objet d'un tri particulier et ne pas être déposés sur les tapis de convoyage car ils provoqueraient une contamination croisée. Les carcasses et les viscères font ensuite l'objet d'une inspection *post mortem*, qui permet d'identifier des lésions anatomo-pathologiques associées à la présence de dangers microbiologiques souvent autres que *Campylobacter* et *Salmonella*, ce qui conduit au retrait des carcasses et des viscères correspondants.

L'étape de ressuage peut être considérée comme une étape de contamination microbiologique : l'air soufflé sur les carcasses peut conduire à des contaminations croisées entre les carcasses tandis que l'eau stagnante à l'intérieur des carcasses peut favoriser le développement microbien. En ce qui concerne *Campylobacter*, très sensible au froid négatif et à la dessiccation, le rapport Anses mentionne qu'une réduction d'un log de *Campylobacter* à l'aide d'une optimisation des conditions de ventilation et de froid lors de cette étape, serait susceptible de réduire le risque *de* campylobactériose de 76% (Anses, 2018b).

A l'issue du ressuage, des auto-contrôles sont effectués par le transformateur. Un certain nombre de critères microbiologiques doivent être respectés selon le Règlement (CE) n°2073/2005 modifié par le Règlement (UE) n°2017/1495. Il existe trois critères d'hygiène relatifs à *Salmonella* (carcasses après ressuage de volaille, de poulets de chair et dindes), *Escherichia coli* (préparations de viande) et depuis 2018, *Campylobacter* (carcasses de poulet de chair après ressuage). Le non-respect de ces critères ne conduit pas à des retraits mais nécessite que des actions d'amélioration de l'hygiène des procédés soient entreprises au niveau de l'abattoir. Il existe un seul critère de sécurité relatif à *Salmonella* (absence dans 25g), qui conduit au retrait du lot en cas de positivité.

Après ressuage, la viande peut être vendue entière prête à cuire, emballée le plus souvent sous skin, découpée et emballée ou transformée. Les étapes de découpe sont des étapes à risque du fait des possibles recontaminations par tous types de microorganismes, qu'ils soient pathogènes ou d'altération, par l'air, le matériel, les surfaces et le personnel. *L. monocytogenes* est le microorganisme pathogène le plus fréquemment rencontré dans ces ateliers de découpe réfrigérés notamment du fait de ces propriétés d'adhésion, de formation de biofilms et de croissance à basse température. De nombreuses TIAC dues à *L. monocytogenes* ainsi que des rappels de produits sont souvent dus à des contaminations de l'environnement et des équipements de production agroalimentaire (Zoellner et al., 2018).

Concernant les bactéries d'altération, les bactéries lactiques sont omniprésentes et s'adaptent à tous types de matrices alimentaires et sont souvent responsables de la limitation des DLC des produits réfrigérés. L'hygiène des salles, des instruments de découpe, de l'air et du personnel est primordiale pour la maîtrise de la contamination des viandes fraiches.

Le stockage et/ou transport de la volaille fraîche ou des abats/foies de volaille (dont le foie gras) avant leur transformation peut entraîner une contamination supplémentaire ou un développement des flores endogènes.

La transformation des produits, intègre généralement **des traitements thermiques ou athermiques** qui permettront de réduire considérablement la charge microbienne des produits et ainsi améliorer leur qualité microbiologique. Ces traitements permettent une stabilisation microbiologique prolongée des produits alimentaires. De manière générale, les microorganismes d'altération comme les bactéries lactiques, mais également des bactéries pathogènes non sporulées, seront maîtrisées à l'aide de ces traitements. Il convient de porter une attention particulière aux toxines thermorésistantes produites par *Bacillus cereus* et *S. aureus,* qui ne seront pas détruites par les traitements thermiques ou d'autres traitements de préservation. Par ailleurs, *B. cereus* est capable de se développer au froid et d'adhérer aux surfaces en acier inoxydable (Anses, 2021b). La contamination par des bactéries sporulées, comme *B. cereus* ou encore *Clostridium* spp., nécessitera l'application de traitements thermiques adaptés plus efficaces que la pasteurisation.

Pour le traitement des produits carnés et des produits de volaille plus spécifiquement, deux types de traitement thermique peuvent être utilisés. Le premier type de traitement est la pasteurisation ; il est

réalisé à une température inférieure à 100°C pour des produits acides ou non acides (Instruction technique DGAL/SDSSA/2015-364). Les produits non acides, comme les produits carnés, pasteurisés devront être conservés à basse température et faire l'objet d'une validation de durée de vie selon la norme NF V01 003 (Afnor, 2018). Le traitement de pasteurisation permet d'éliminer les microorganismes pathogènes végétatifs comme *L. monocytogenes, Salmonella spp, E. coli, St. aureus* et *Campylobacter* spp. *Listeria* est à ce jour reconnue comme la plus résistante au traitement thermique et est utilisée comme microorganisme de référence pour les produits pasteurisés réfrigérés (ECCF [European Chilled Food Federation], 2006). *Campylobacter* est reconnu comme le plus thermosensible des microorganismes pathogènes. L'Anses préconise une cuisson supérieure à 65°C à cœur pour les viandes de volaille pour s'affranchir du risque de campylobactériose (CES BIORISK [Comité d'Experts Evaluation des risques biologiques dans les aliments], 2020). Une destruction de 6 log UFC/g de *L. monocytogenes* est préconisée pour s'affranchir de la présence de ce pathogène à l'aide d'une pasteurisation de 2 minutes à 70°C. Ce traitement est néanmoins insuffisant pour éliminer les microorganismes végétatifs d'altération et les microorganismes pathogènes ou d'altération sporulés. Concernant les microorganismes végétatifs d'altération, une bactérie lactique est prise comme référence pour les traitements de pasteurisation, *Enterococcus faecalis* (Instruction technique DGAL/SDSSA/2015-364). Les bactéries lactiques, souvent présentes en quantité plus importante, nécessitent une pasteurisation d'au moins 40 minutes à 70°C à cœur (VP 70°C – z 10°C) pour éliminer 13 log UFC/g de cette bactérie.

Pour les microorganismes pathogènes ou d'altération sporulés, un traitement plus puissant, c'est-à-dire supérieur à 100°C, est nécessaire ; il s'agit d'une stérilisation. Ce traitement thermique s'accompagne d'une montée en pression (supérieure à la pression atmosphérique) qui permet, en synergie avec la température, de détruire les microorganismes sporulés. Le microorganisme pathogène sporulé de référence est *C. botulinum* et un traitement de 3 minutes à 121°C à cœur du produit est requis pour une destruction de 12 log UFC/g de cette bactérie. La présence des microorganismes sporulés d'altération nécessite également des traitements plus importants (supérieurs à 3 minutes à 121°C) car ils sont présents en plus grande quantité et ont aussi des valeurs de résistance thermique plus importantes comme *Clostridium sporogenes*, retrouvée dans les produits carnés en conserve comme les confits de canard ou les pâtés. Les produits traités en stérilisation peuvent être stockés à température ambiante et doivent faire l'objet de contrôle de stabilité microbiologique selon les normes NF V08 401 et NF V08 408 (Afnor, 1997a; Afnor, 1997b). La non-conformité au test d'étuvage à 32 ou 37°C doit entrainer une destruction des lots de fabrication car des microorganismes pathogènes ont pu se développer à ces températures ; et une recherche de la cause de non-conformité est requise avec l'identification du microorganisme (Instruction technique DGAL/SDSSA/2015-364).

Lors des traitements thermiques, notamment de pasteurisation, le refroidissement est également un moyen de maitrise de l'évolution de la contamination microbiologique. Cette étape doit être la plus rapide possible c'est-à-dire mettre moins de deux heures pour passer de 63°C à des températures inférieures à 10°C (DGAL [Direction de l'Information Légale et Administrative], 2011). Ce temps est préconisé pour s'affranchir de la germination et de la reprise de croissance des bactéries sporulées. Des temps supérieurs à deux heures nécessiteront une validation expérimentale démontrant l'absence de risque de développement de bactéries sporulées comme *B. cereus* ou *C. perfringens*. Le traitement par hautes pressions (HP) est également utilisé pour le traitement des produits transformés de volaille. Il se réalise dans un emballage étanche et souple par l'application de pressions de 3000 à 6000 bar. La pression est conduite par une circulation d'eau, de façon homogène en tout point du produit, à température réfrigérée ou ambiante, avec des cycles très courts de quelques minutes. Les produits traités par hautes pressions sont conservés à basse température et doivent faire l'objet d'une validation de durée de vie selon la norme NF V01 003 (Afnor, 2018).

Le traitement HP permet d'éliminer les microorganismes pathogènes végétatifs comme *L. monocytogenes, Salmonella spp, E. coli, S. aureus* et *Campylobacter* spp. Néanmoins, les traitements ne permettent pas de détruire les bactéries sporulées qu'elles soient pathogènes ou d'altération. Le traitement HP est autorisé en France par l'Anses avec des traitements de 3 à 5 minutes à 6000 bars. Des traitements appliqués à des produits alimentaires au-delà de ces conditions doivent faire l'objet d'une demande d'autorisation *Novel food* auprès de l'EFSA (Règlement (CE) N° 2015/228).

CONCLUSION

La qualité microbiologique des viandes que l'on appelle désormais microbiote, n'est pas simple. Elle résulte de multiples sources de contamination tout au long de la chaîne alimentaire, depuis l'élevage jusqu'à l'assiette du consommateur. La contamination endogène du tractus digestif des volailles joue un rôle majeur dans la composition du microbiote de la viande de volaille. L'environnement des bâtiments d'élevage, des usines (air, sol, surfaces, aérosols), constituent d'autres sources de contamination parfois difficiles à contrôler. De plus, les bactéries qui persisteront *in fine* sur la viande, seront celles qui seront parvenues à se multiplier, ou à mettre en place des stratégies d'adaptation à des conditions

nutritionnelles, de température, d'hygrométrie, d'atmosphère qui sont souvent éloignées des conditions optimales de leur réservoir de prédilection. Comprendre les facteurs qui influencent la structuration des communautés bactériennes reste un front de science du fait de la complexité et de la multiplicité des facteurs qui entrent en jeu. De nombreuses études ont évalué l'influence de l'élevage, de l'abattage et de la transformation sur la survie et la persistance des bactéries pathogènes telles que *Campylobacter* et *Salmonella* car assurer la sécurité sanitaire des produits de volaille est un enjeu majeur de santé publique. La compréhension et la maîtrise de l'altération microbiologique, à l'échelle du microbiote de la viande, n'est pas aussi avancée du fait de la multiplicité des facteurs qui vont affecter la qualité microbiologique des viandes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ae Kim, S., Hong Park, S., In Lee, S., Owens, C.M., Ricke, S.C. 2017. Assessment of chicken carcass microbiome responses during processing in the presence of commercial antimicrobials using a next generation sequencing approach. Scientific Reports 7, 43354.

Afnor. 1997a. NF V08-001 - Microbiologie des aliments - Contrôle de la stabilité des produits appertisés et assimilés - Méthode de référence.

Afnor. 1997b. NF V08-008 - Microbiologie des aliments - Contrôle de la stabilité des produits appertisés et assimilés - Méthode de routine.

Afnor. 2018. NF V01-003 - Traçabilité et sécurité des aliments - Management et hygiène - Lignes directrices pour la réalisation de tests de vieillissement microbiologique - Aliments périssables réfrigérés.

Afssa. 2008. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à un projet de guide de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes de l'HACCP pour les petites structures d'abattage, de découpe de volailles maigres et de lagomorphes Saisine n° 2008-SA-0109.

Afssa. 2009. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à un guide de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP concernant l'abattage des palmipèdes à foie gras, l'éviscération dans les tueries, les salles d'abattages agréées et les abattoirs individuels à la ferme agréés Saisine n° 2009-SA-0004.

Allain, V., Chemaly, M., Laisney, M.J., Rouxel, S., Quesne, S., Le Bouquin, S. 2014. Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* colonisation in broiler flocks at the end of the rearing period in France. British Poultry Science 55, 452-459.

André, S. 2015. Caractérisation et écologie microbienne de lignes de production de conserves. Thèse d'Université.

Anses. 2018a. Attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire - Partie 2 : Analyse des données épidémiologiques, Avis de l'Anses. Expertise collective.

Anses. 2018b. AVIS et RAPPORT de l'Anses relatif à l'état des connaissances sur la contamination des poulets de chair par Campylobacter et à l'évaluation de l'impact des interventions à différents stades de la chaîne alimentaire en France Saisine n° 2016-SA-0183.

Anses. 2020. Hiérarchisation des dangers biologiques et chimiques dans le but d'optimiser la sécurité sanitaire des aliments Rapport de l'Anses. Expertise collective.

Anses. 2021a. *Clostridium botulinum* : mise à jour des connaissances sur les différentes formes des types C, D, mosaïque C/D et D/C et E, RAPPORT INTERMÉDIAIRE d'expertise collective (saisines 2019-SA-0112 à 2019-SA-0115), Maisons-Alfort. 170.

Anses. 2021b. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Bacillus cereus*. Saisine n°2016-SA-0075.

Anses. 2021c. Projet de guide de bonnes pratiques de protection animale en abattoirs de volaille, Avis révisé de l'Anses. Rapport révisé d'expertise collective.

Batz, M.B., Hoffmann, S., Morris, J.G., Jr. 2012. Ranking the disease burden of 14 pathogens in food sources in the United States using attribution data from outbreak investigations and expert elicitation. Journal of Food Protection 75, 1278-1291.

Borda-Molina, D., Seifert, J., Camarinha-Silva, A. 2018. Current perspectives of the chicken gastrointestinal tract and its microbiome. Computational and Structural Biotechnology Journal 16, 131-139.

Boubendir, S., Arsenault, J., Quessy, S., Thibodeau, A., Fravalo, P., ThéRiault, W.P., Fournaise, S., Gaucher, M.-L. 2020. Salmonella contamination of broiler chicken carcasses at critical steps of the slaughter process and in the environment of two slaughter plants: Prevalence, genetic profiles, and association with the final carcass status. Journal of Food Protection 84, 321-332.

Broom, L.J., Kogut, M.H. 2018. The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens. Veterinary Immunology and Immunopathology 204, 44-51.

Buess, S., Zurfluh, K., Stephan, R., Guldimann, C. 2019. Quantitative microbiological slaughter process analysis in a large-scale Swiss poultry abattoir. Food Control 105, 86-93.

Casaburi, A., De Filippis, F., Villani, F., Ercolini, D. 2014. Activities of strains of *Brochothrix thermosphacta in vitro* and in meat. Food Research International 62, 366-374.

CES BIORISK [Comité d'Experts Evaluation des risques biologiques dans les aliments]. 2020. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Campylobacter jejuni, Campylobacter coli*. Saisine Anses n°2016-SA-0079.

Chemaly, M., Toquin, M.T., Le Notre, Y., Fravalo, P. 2008. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry production in France. Journal of Food Protection 71, 1996-2000.

Chen, S.H., Fegan, N., Kocharunchitt, C., Bowman, J.P., Duffy, L.L. 2020. Changes of the bacterial community diversity on chicken carcasses through an Australian poultry processing line. Food Microbiology 86, 103350.

CIFOG [Comité Interprofessionnel des Palmipèdes à Foie Gras]. 2016. Guide des Bonnes Pratiques d'Hygiène en élevage et gavage de Palmipèdes à à foie gras, 113.

CIFOG [Comité Interprofessionnel des Palmipèdes à Foie Gras]. 2018. Guide des Bonnes Pratiques d'Hygiène et des Principes de Biosécurité lors des opérations de Transport pour la filière Palmipèdes à à foie gras, 34.

Clavijo, V., Flórez, M.J.V. 2018. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. Poultry Science 97, 1006-1021.

Consortium du projet des guides pour le Transport des animaux. 2017. Guide de Bonnes Pratiques pour le transport des volailles.

DGAL [Direction de l'Information Légale et Administrative], (Ed.) 2010. Guide des Bonnes Pratiques d'Hygiène et d'application des principes HACCP relatifs à l'abattage et à la découpe des volailles maigres (toutes espèces) (FIA). Les éditions des journaux officiels.

DGAL [Direction de l'Information Légale et Administrative], (Ed.) 2011. Guide de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP plats cuisinés et viande en conserves appertisées. Les éditions des journaux officiels.

Duqué, B., Daviaud, S., Guillou, S., Haddad, N., Membré, J.-M. 2018. Quantification of *Campylobacter jejuni* contamination on chicken carcasses in France. Food Research International 106, 1077-1085.

ECCF [European Chilled Food Federation]. 2006. Recommendations for the production of prepackaged chilled food. 88.

EFSA. 2004. Opinions of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) related to the use of vaccines for the control of *Salmonella* in poultry. EFSA Journal 114, 1-74.

EFSA. 2010. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008 - Part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates. EFSA Journal 8, 1503.

EFSA. 2011. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Journal 9, 2105.

EFSA, ECDC. 2019. The European Union One Health 2018 zoonoses report. EFSA Journal 17, 5926.

FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. 2009a. Joint FAO/WHO food standards programme CODEX Committee on food hygiene. Guideline for the control of *Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat.

FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. 2009b. Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens: Technical Report, Microbiological Risk Assessment Series, Geneva. 132.

FranceAgriMer. 2020. La consommation des produits carnés en 2019, LES DONNÉES de FranceAgriMer, vol. ÉDITION septembre 2020, ÉDITION septembre 2020 ed. FranceAgriMer.

Fries-Craft, K., Meyer, M.M., Sato, Y., El-Gazzar, M., Bobeck, E.A. 2021. Age and *Staphylococcus aureus* inoculation route differentially alter metabolic potential and immune cell populations in laying hens. Frontiers in Veterinary Science 8.

FSIS/USDA [Food Safety and Inspection Service], U. 2021a. FSIS guidelines for controlling *Campylobacter* in raw poutry.

FSIS/USDA [Food Safety and Inspection Service], U. 2021b. FSIS guidelines for controlling *Salmonella* in raw poutry.

Guerin, M.T., Sir, C., Sargeant, J.M., Waddell, L., O'Connor, A.M., Wills, R.W., Bailey, R.H., Byrd, J.A. 2010. The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: A systematic review. Poultry Science 89, 1070-1084.

Haberecht, S., Bajagai, Y.S., Moore, R.J., Van, T.T.H., Stanley, D. 2020. Poultry feeds carry diverse microbial communities that influence chicken intestinal microbiota colonisation and maturation. AMB Express 10, 143.

Hartnett, E., Kelly, L., Newell, D., Wooldridge, M., Gettinby, G. 2001. A quantitative risk assessment for the occurrence o*f Campylobacter* in chickens at the point of slaughter. Epidemiology and Infection 127, 195-206.

Hayama, Y., Yamamoto, T., Kasuga, F., Tsutsui, T. 2011. Simulation model for *Campylobacter* cross-contamination during poultry processing at slaughterhouses. Zoonoses and Public Health 58, 399-406.

Hinton, A., Cason, J.A., Ingram, K.D. 2004. Tracking spoilage bacteria in commercial poultry processing and refrigerated storage of poultry carcasses. International Journal of Food Microbiology 91, 155-165.

Hue, O., Le Bouquin, S., Laisney, M.J., Allain, V., Lalande, F., Petetin, I., Rouxel, S., Quesne, S., Gloaguen, P.Y., Picherot, M., Santolini, J., Salvat, G., Bougeard, S., Chemaly, M. 2010. Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. Food Microbiology 27, 992-999.

Huezo, R., Northcutt, J.K., Smith, D.P., Fletcher, D.L., Ingram, K.D. 2007. Effect of dry air or immersion chilling on recovery of bacteria from broiler carcasses. Journal of Food Protection 70, 1829-1834.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2011. Part II. Application of principles of product categories. Chapter 9 : Poultry products. In: International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), (Ed.), Microorganisms in Foods 8 - Use of data for assessing process control and product acceptance. Springer, New York, Dordrecht, Heidelberg, London. 95-106.

Kers, J.G., Velkers, F.C., Fischer, E.A., Hermes, G.D.A., Stegeman, J.A., Smidt, H. 2018. Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens. Frontiers in Microbiology 9.

Khalid, T., Hdaifeh, A., Federighi, M., Cummins, E., Boué, G., Guillou, S., Tesson, V. 2020. Review of quantitative microbial risk assessment in poultry meat: The central position of consumer behavior. Foods 9.

Le Bouquin, S., Allain, V., Rouxel, S., Petetin, I., Picherot, M., Michel, V., Chemaly, M. 2010. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. Preventive Veterinary Medicine 97, 245-251.

Li, M., Havelaar, A.H., Hoffmann, S., Hald, T., Kirk, M.D., Torgerson, P.R., Devleesschauwer, B. 2019. Global disease burden of pathogens in animal source foods, 2010. PLOS ONE 14, e0216545.

Li, S., Mann, D.A., Zhang, S., Qi, Y., Meinersmann, R.J., Deng, X., Cotter, P.D. 2020. Microbiome-informed food safety and quality: Longitudinal consistency and cross-sectional distinctiveness of retail chicken breast microbiomes. mSystems 5, e00589-00520.

Machado Junior, P.C., Chung, C., Hagerman, A. 2020. Modeling *Salmonella* spread in broiler production: Identifying determinants and control strategies. Frontiers in Veterinary Science 7.

Marmion, M., Ferone, M.T., Whyte, P., Scannell, A.G.M. 2021. The changing microbiome of poultry meat; from farm to fridge. Food Microbiology 99, 103823.

Matamoros, S., André, S., Hue, I., Prévost, H., Pilet, M.F. 2010. Identification of lactic acid bacteria involved in the spoilage of pasteurized "foie gras" products. Meat Science 85, 467-471.

Mead, G.C. 2004. Microbiological quality of poultry meat: a review. Revista Brasileira de Ciência Avícola 6, 135-142.

Meunier, M., Guyard-Nicodeme, M., Dory, D., Chemaly, M. 2016. Control strategies against *Campylobacte*r at the poultry production level: biosecurity measures, feed additives and vaccination. Journal of Applied Microbiology 120, 1139-1173.

Nachamkin, I., Allos, B.M., Ho, T. 1998. *Campylobacter* species and Guillain-Barre syndrome. Clinical Microbiology Reviews 11, 555-567.

Nauta, M., van der Fels-Klerx, I., Havelaar, A. 2005. A poultry-processing model for quantitative microbiological risk assessment. Risk Analysis 25, 85-98.

Northcutt, J.K., Savage, S.I., Vest, L.R. 1997. Relationship between feed withdrawal and viscera condition of broilers. Poultry Science 76, 410-414.

Oakley, B.B., Lillehoj, H.S., Kogut, M.H., Kim, W.K., Maurer, J.J., Pedroso, A., Lee, M.D., Collett, S.R., Johnson, T.J., Cox, N.A. 2014. The chicken gastrointestinal microbiome. FEMS Microbiology Letters 360, 100-112.

OCDE. 2021. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030.

Pacholewicz, E., Swart, A., Schipper, M., Gortemaker, B.G., Wagenaar, J.A., Havelaar, A.H., Lipman, L.J. 2015. A comparison of fluctuations of *Campylobacter* and *Escherichia coli* concentrations on broiler chicken carcasses during processing in two slaughterhouses. International Journal of Food Microbiology 205, 119-127.

Planchon, S., Nibouche, B., Cordier, G., André, S., Zuber, F. 2021. Characterization and detection of *Clostridium algidicarnis* associated with spoilage of pasteurized foie gras, vol. soumis.

Planchon, S., Taminiau, B., Daube, G., Zuber, F. 2018. Projet Ecofog : Ecology of foie gras processing lines in France

Rivera-Pérez, W., Barquero-Calvo, E., Zamora-Sanabria, R. 2014. Salmonella contamination risk points in broiler carcasses during slaughter line processing. Journal of Food Protection 77, 2031-2034.

Rothrock, M.J., Jr., Davis, M.L., Locatelli, A., Bodie, A., McIntosh, T.G., Donaldson, J.R., Ricke, S.C. 2017. Listeria occurrence in poultry flocks: Detection and potential implications. Frontiers in Veterinary Science 4, 125-125.

Rothrock, M.J., Locatelli, A., Glenn, T.C., Thomas, J.C., Caudill, A.C., Kiepper, B.H., Hiett, K.L. 2016. Assessing the microbiomes of scalder and chiller tank waters throughout a typical commercial poultry processing day. Poultry Science 95, 2372-2382.

Rouger, A., Tresse, O., Zagorec, M. 2017. Bacterial contaminants of poultry meat: Sources, species, and dynamics. Microorganisms 5, 50.

Säde, E., Murros, A., Björkroth, J. 2013. Predominant enterobacteria on modified-atmosphere packaged meat and poultry. Food Microbiology 34, 252-258.

Samapundo, S., de Baenst, I., Aerts, M., Cnockaert, M., Devlieghere, F., Van Damme, P. 2019. Tracking the sources of psychrotrophic bacteria contaminating chicken cuts during processing. Food Microbiology 81, 40-50.

Santé Publique France. 2020a. Bilan de la surveillance des infections à *Campylobacter* en France en 2019.

Santé Publique France. 2020b. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives. Données de la déclaration obligatoire.

Seliwiorstow, T., Baré, J., Berkvens, D., Van Damme, I., Uyttendaele, M., De Zutter, L. 2016. Identification of risk factors for *Campylobacter* contamination levels on broiler carcasses during the slaughter process. International Journal of Food Microbiology 226, 26-32.

Shi, Z., Rothrock Jr., M.J., Ricke, S.C. 2019. Applications of microbiome analyses in alternative poultry broiler production systems. Frontiers in Veterinary Science 6.

Souillard, R., Grosjean, D., Le Gratiet, T., Poezevara, T., Rouxel, S., Balaine, L., Mace, S., Martin, L., Anniballi, F., Chemaly, M., Le Bouquin, S., Le Marechal, C. 2021. Asymptomatic carriage of *C. botulinum* Type D/C in broiler flocks as the source of contamination of a massive botulism outbreak on a dairy cattle farm. Frontiers in Microbiology 12, 679377.

Vasai, F. 2013. Etude de la composition du microbiote intestinal des canards. Impact du gavage, de l'ajout d'un probiotique (*Lactobacillus sakei*) et d'un composé organométallique (cadmium). Thèse d'Université.

Vasai, F., Ricaud, K.B., Cauquil, L., Daniel, P., Peillod, C., Gontier, K., Tizaoui, A., Bouchez, O., Combes, S., Davail, S. 2014. *Lactobacillus sakei* modulates mule duck microbiota in ileum and ceca during overfeeding. Poultry Science 93, 916-925.

Wei, S., Morrison, M., Yu, Z. 2013. Bacterial census of poultry intestinal microbiome. Poultry Science 92, 671-683.

World Health Organization. 2015. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015 World Health Organization, Geneva.

Xue, G., Cheng, S., Yin, J., Zhang, R., Su, Y., Li, X., Li, J., Bao, J. 2021. Influence of pre-slaughter fasting time on weight loss, meat quality and carcass contamination in broilers. Animal bioscience 34, 1070-1077.

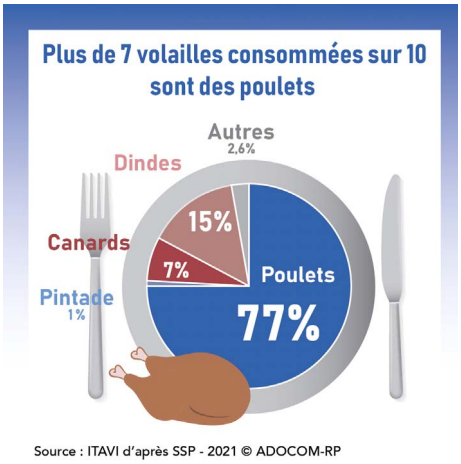
Zeghar, l. 2019. Contribution à l'étude de la biosécurité au cours d'élevage de poulet de chair et leur impact sur les performances zootechniques dans la région d'Alger, Mémoire de Master. Faculté des Sciences exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie.

Zhang, L., Wu, W., Lee, Y.-K., Xie, J., Zhang, H. 2018. Spatial heterogeneity and co-occurrence of mucosal and luminal microbiome across swine intestinal tract. Frontiers in Microbiology 9.

Zhao, L., Wang, G., Siegel, P., He, C., Wang, H., Zhao, W., Zhai, Z., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Sun, Z., Chen, W., Zhang, Y., Meng, H. 2013. Quantitative genetic background of the host influences gut microbiomes in chickens. Scientific Reports 3, 1163.

Zoellner, C., Ceres, K., Ghezzi-Kopel, K., Wiedmann, M., Ivanek, R. 2018. Design elements of *Listeria* environmental monitoring programs in food processing facilities: A scoping review of research and guidance materials. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 17, 1156-1171.

Figure 1. Espèces de volaille consommées en France



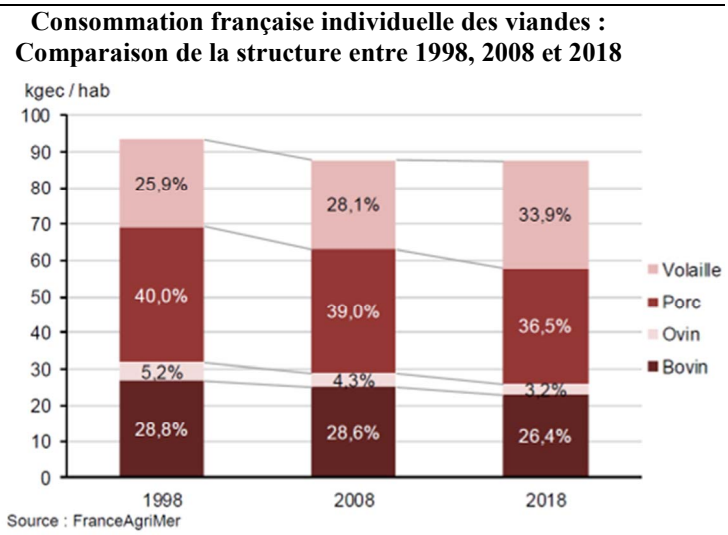


Figure 2. Anatomie du poulet (D'après Marmion et al. (2020)). En bleu les différentes régions anatomiques du tractus gastro-intestinal des poulets

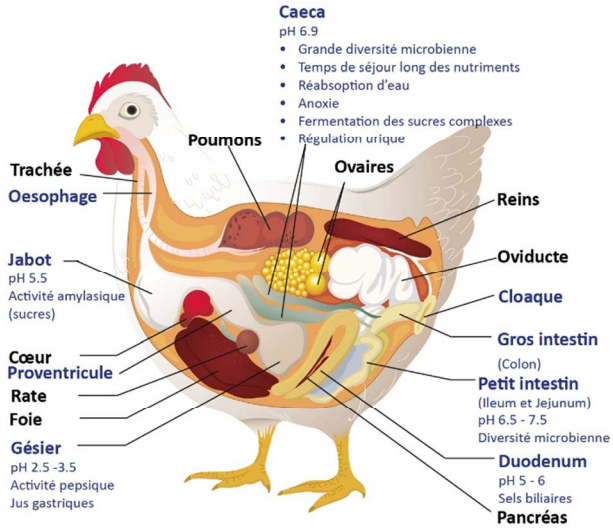


Figure 3. Influence des étapes de production, depuis l'élevage jusqu'au produit fini, sur la qualité microbiologique des produits aviaires

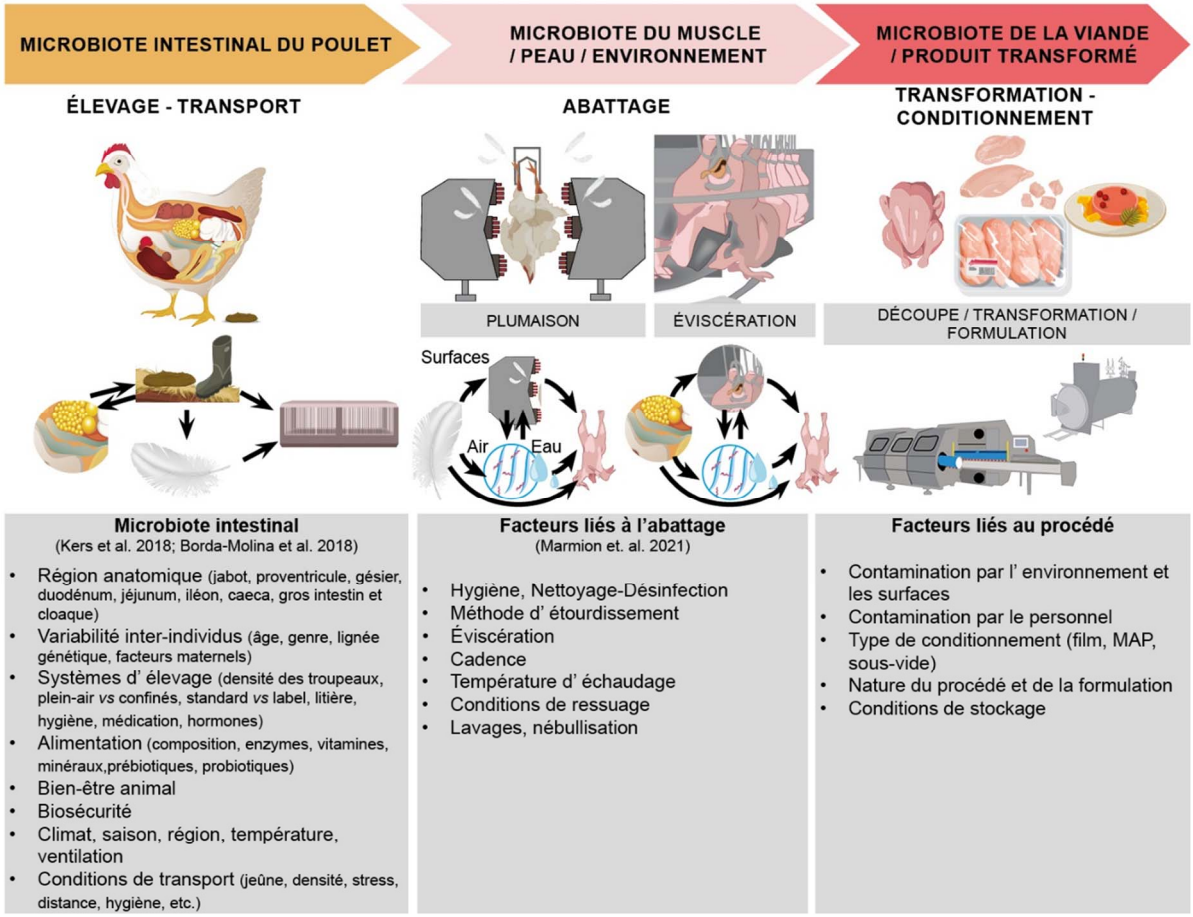
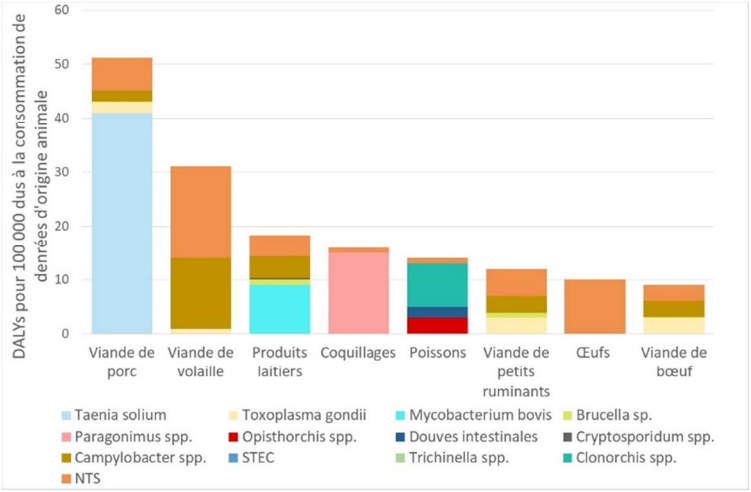


Figure 4. Représentation des agents pathogènes qui contribuent au fardeau mondial lié à la consommation de denrées d'origine animale (Li et al., 2019)



SESSION

HYGIENE ET QUALITE

DES PRODUITS

Communication orale

EXISTE-T-IL DES MARQUEURS METABOLIQUES DE LA QUALITE DE COQUILLE CHEZ LA POULE PONDEUSE ?

Eva Pampouille[1], Joël Gautron[2], Nathalie Même[2], Léonie Dusart[1], Michel J, Duclos[2], Gaëlle Benzoni[3], Vérane Gigaud[4], Elisa Folegatti[4], Jean-Marc Thoby[4], Maxime Quentin[5], Eric Lespessailles[6,7], Thomas Janvier[6], Hechmi Toumi[6,7], Agnès Narcy[2]

[1]ITAVI - 37380 NOUZILLY
[2]INRAE, Université de Tours, BOA - 37380 NOUZILLY
[3]ADM – Talhouët - 56250 SAINT NOLFF
[4]DSM Nutritional Products France - 92250 LA GARENNE COLOMBES
[5]ITAVI- Chambre d'Agriculture de Rennes 35042 RENNES
[6]PRIMMO Plateforme Recherche Innovation Médicale Mutualisée d'Orléans, Centre Hospitalier d'Orleans – 45000 ORLEANS
[7]DEPARTEMENT DE RHUMATOLOGIE - Centre Hospitalier d'Orleans – 45000 ORLEANS

pampouille@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ (15 lignes)
Chez la poule pondeuse, la formation journalière de la coquille nécessite une exportation massive de calcium (Ca) vers l'utérus en provenance de l'alimentation et du squelette. Avec l'âge, les os ont tendance à se fragiliser, la qualité de la coquille se détériore et le bilan phosphocalcique est souvent perturbé. La recherche de marqueurs précoces, prédicteurs d'une dégradation du squelette et/ou de la qualité de la coquille, permettrait d'anticiper les carences et adapter suffisamment tôt l'alimentation. Pour ce faire, deux lots de poules sélectionnées sur une bonne ou une mauvaise qualité de coquille ont été suivis longitudinalement entre 26 et 96 semaines (S) d'âge. Des prélèvements sanguins ont été réalisés à l'âge de 26, 46, 84 et 96S afin d'étudier les activités d'accrétion (Ostéocalcine) et de résorption (CTX) osseuses, le statut circulant en 25-OH-vitamine D_3 ainsi que le métabolome sanguin. La teneur plasmatique en 1,25-OH_2-D_3 a été déterminée à 96S. A 96S, les analyses du métabolome ne présentaient aucune différence significative entre les deux groupes. Cependant, chez les poules sélectionnées sur une bonne qualité de coquille, les niveaux plasmatiques de 1,25-OH_2-D_3 et CTX étaient plus élevés par rapport aux poules présentant une qualité de coquille plus faible. Le suivi longitudinal a mis en évidence une hausse précoce (dès 26S d'âge) de la 25-OH-D_3 et du CTX chez les poules présentant la meilleure qualité de coquille. Le statut en 25-OH-D_3 ainsi que le CTX pourraient être des marqueurs précoces de la qualité de coquille.

ABSTRACT
Early markers of eggshell quality in laying hens
In laying hens, the daily eggshell formation requires a massive export of calcium (Ca) to the uterus from the feed and the skeleton. With age, bones tend to become fragile, eggshell quality deteriorates and the phosphorus: calcium balance is often disturbed. The search for sensitive markers, predictors of skeletal degradation and/or eggshell quality, would make it possible to monitor feed intake and prevent osteoporosis. To do this, two batches of hens selected for good or poor eggshell quality were followed longitudinally between 26 and 96 weeks (W) of age. Blood samples were taken from the same hens at 26, 46, 84 and 96 W of age to study bone accretion (Osteocalcin) and resorption (CTX) activities, circulating 25-OH-vitamin D_3 status and blood metabolome. Plasma 1,25-OH_2-D_3 content was determined at 96W and bone microarchitecture was studied by micro-tomography. At 96W, metabolome analyses presented no significant difference between the two groups. Yet, only the good eggshell quality group showed a higher plasma levels of 1,25-OH_2-D_3 and CTX compared to poor shell quality group. Longitudinal follow-up showed an early increase (from 26W of age) in 25-OH-D_3 and CTX in hens with the best eggshell quality. Controlling 25-OH-D_3 status and CTX could be an option to monitoring eggshell quality.

INTRODUCTION

Chez la poule pondeuse, la formation journalière de la coquille nécessite une exportation massive de calcium (Ca) vers l'utérus (Nys et al., 2018). L'organisme, sous l'influence de régulations nutri-hormonales, contrôle la quantité de calcium dans les cellules et le sang. Le calcium provient de l'alimentation mais aussi du squelette. Il se déplace des os vers le sang lorsque cela est nécessaire afin de maintenir un taux constant. Avec l'âge, les os ont tendance à se fragiliser, la qualité de la coquille se détériore et le bilan phosphocalcique est souvent perturbé. Des modifications physiologiques ont été observées avec notamment une baisse de l'expression des transporteurs impliqués dans l'absorption de calcium au niveau intestinal et une baisse du niveau plasmatique de 1,25-OH_2-D_3 chez les poules âgées (Gloux et al, 2020). Même si aucun lien évident n'a pu être établi entre qualité d'os et qualité de coquille, la recherche de marqueurs précoces, prédicteurs d'une dégradation du squelette ou de la qualité de la coquille, permettrait d'anticiper les risques et adapter suffisamment tôt l'alimentation. Cette question est d'autant plus importante aujourd'hui que le cycle de production des poules pondeuses tend à s'allonger. Pour ce faire, une étude longitudinale a été réalisée afin de suivre l'évolution de la qualité de coquille et du métabolisme de deux lots de poules de 26 à 96 semaines d'âge sélectionnées sur une bonne ou une mauvaise qualité de coquille.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Design expérimental

450 poules issues d'un lot de sélection (Novogen, souche Brown) et choisies de manière aléatoire ont été suivies durant leur cycle de production, de 26 à 96 semaines d'âge. Parmi elles, deux lots ont été constitués à 84 semaines d'âge : bonne qualité (QC+, n=35) et mauvaise qualité de coquille (QC-, n=35), divergents en termes de force à la fracture (respectivement 3891g ± 493 et 3051g ± 464) et déformation de la coquille (respectivement 1978 ± 182 et 1545 ± 184).

1.2. Mesures

Des prises de sang ont été réalisées sur toutes les poules à 26, 46, 84 et 96 semaines d'âge. Le jour de l'abattage à 96S, l'heure de ponte a été enregistrée individuellement pour ordonner l'heure d'abattage. Au moment de l'abattage, la coquille des œufs a été prélevée *in utero* afin de déterminer précisément le stade de ponte. Un total de 27 poules (14 QC- et 13 QC+), estimées entre 5h et 9h30 post-oviposition (phase de repos), ont été sélectionnées.

Le plasma de ces poules à 26, 46, 84 et 96S a été analysé pour étudier le niveau plasmatique en 25-OH-D_3 (RIA), les activités d'accrétion (Ostéocalcine, OC ; ELISA) et de résorption (CTX, ELISA) osseuses et le métabolome sanguin (25 métabolites, RMN 1H 1D). À l'âge de 96S, des analyses du niveau plasmatique de la 1,25-OH_2-D_3 (RIA) ont également été effectuées.

Une analyse du foie a été effectuée sur les 27 poules à l'âge de 96S afin d'étudier le statut métabolique en termes de métabolisme de la vitamine D en utilisant les marqueurs suivants : CYP27A1 et CYP3A4 (qPCR).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

À l'âge de 96 semaines, un niveau plus élevé de 1,25-OH_2-D_3 et de CTX dans le sang a été observé ainsi qu'un rapport OC:CTX plus faible chez les poules ayant une meilleure qualité de coquille d'œuf, ce qui illustre une stimulation du métabolisme de la vitamine D et de la résorption osseuse (Tableau 1). Renforçant ces résultats, une corrélation négative a été observée entre le niveau plasmatique de 1,25-OH_2-D_3 et le ratio OC:CTX (r=-0,61, P=0,001). On peut émettre l'hypothèse que les oiseaux présentant des niveaux circulants plus faibles de 1,25-OH_2-D_3 ne mobilisent pas suffisamment de calcium osseux pour répondre pleinement aux besoins de la formation de la coquille. Le niveau de 25-OH-D_3 et l'expression des CYP27A1 et CYP3A4 hépatiques (impliqués dans la 25-hydroxylation de la vitamine D) sont similaires dans les deux groupes, excluant ainsi une régulation à ce niveau. On peut émettre l'hypothèse que la 1 alpha-hydroxylation qui a lieu dans le rein est stimulée ou que la dégradation du 1,25-OH_2-D_3 est réduite mais ces mécanismes doivent être confirmés.

D'après la bibliographie, il n'existe pas de consensus formel entre la qualité de l'os et de la coquille. Bien que les marqueurs plasmatiques du turn-over osseux ne reflètent pas directement la qualité osseuse, ils présentent plutôt un intérêt dans la prédiction du risque de fracture. Nos résultats sont cohérents avec l'étude de Bishop et al, (2000) qui a montré que les oiseaux plus résistants à l'ostéoporose déposent moins de calcium dans les coquilles d'œufs. Il semble que les différences de qualité osseuse entre les lignées ne dépendent pas de facteurs liés à la reproduction des femelles, comme la fonction des glandes coquillières. Le fait que le calcium particulaire améliore à la fois la qualité de la coquille et celle de l'os par rapport à une forme en poudre renforce ce point de vue (Guinotte et Nys, 1991 ; Fleming et al., 1998 ; Whitehead, 2004). Plus récemment, Eusemann et al., (2018) ont constaté une incidence réduite des fractures dans une lignée ponte brune peu productive par rapport à une lignée brune fortement productive (Toscano et al., 2020). De façon surprenante, les fractures les plus graves étaient retrouvées dans une lignée blanche peu productive. De même, en comparant une lignée peu productive (Barred Plymouth Rock) avec des lignées commerciales très productives (Hy-Line Brown, Hy-Line Silver), les taux de fractures étaient accrus chez

ces dernières malgré une densité osseuse comparativement plus importante (Regmi et al., 2016).
Différents mécanismes sont affectés chez les poules âgées et pourraient potentiellement être contrôlés de manière différentielle parmi les groupes de qualité de coquille élevée ou faible (Gloux et al., 2020). En effet, l'expression génétique des transporteurs de Ca, du récepteur de la vitamine D (VDR) dans le jéjunum, et celle du canal calcique, TRPV5, dans le rein diminuent. Cela pourrait exacerber la résorption osseuse et nuire à l'accrétion osseuse, comme l'atteste une expression plus élevée du gène de l'anhydrase carbonique 2 (CA2) et une expression plus faible de la chaîne alpha 1 du collagène de type I (COL1A1) dans l'os. L'expression accrue du facteur de croissance 23 des fibroblastes (FGF23) dans l'os pourrait contribuer à la diminution des taux plasmatiques de 1,25-OH_2-D_3 et à la modification de l'expression des gènes cibles qu'il régule.

Un niveau plus élevé de 25-OH-D_3 circulante a été observé chez les poules ayant la meilleure qualité de coquille d'œuf à partir de 26 semaines d'âge et tout au long de l'étude ainsi qu'une plus grande activité de résorption osseuse reflétée par une augmentation du CTX plasmatique (Figure 1). Cette augmentation de la 25-OH-D_3 peut être due à une stimulation de son absorption intestinale sous contrôle génétique. Des concentrations sériques adéquates de 25-hydroxyvitamine D_3, [25-OH-D_3], sont nécessaires pour une santé osseuse optimale. Chez l'homme, ce paramètre peut varier en fonction des polymorphismes des gènes liés au métabolisme de la vitamine D, par exemple la vitamine D 25-hydroxylase (CYP2R1), 24-hydroxylase (CYP24A1), 1-hydroxylase (CYP27B1) et les gènes du récepteur de la vitamine D (VDR) (Barry et al., 2014 ; Hu et al, 2019). Le nombre élevé d'oiseaux à 26, 46 (n=400) et 84 (n=130) semaines n'a pas permis de synchroniser tous les oiseaux et de disposer d'échantillons au même stade physiologique. Ainsi, seule la 25-OH-D_3 a été analysée, considérant qu'elle représente le paramètre le plus adéquat et le plus stable pour évaluer le statut en vitamine D.
Un statut plus élevé en 25-OH-D_3 pourrait donc représenter avec le CTX un biomarqueur utile pour prédire la qualité de la coquille d'œuf. Cependant, il semble qu'il existe un compromis entre les besoins du squelette et ceux de la coquille,

Des échantillons de plasma ont également été analysés pour leur profil métabolomique. Les résultats ont montré une grande variance inter- et intra-groupes (données non présentées). Il est à noter que les échantillons de poules âgées de 24 semaines étaient plus hétérogènes. Aucun cluster n'a été trouvé et l'analyse PLS-DA supervisée n'a pas permis de différencier l'un ou l'autre des groupes.

CONCLUSION

Cette étude suggère que la qualité de coquille chez les poules pondeuses pourrait être corrélée à des modifications du métabolisme phospho-calcique et osseux. Chez les animaux présentant une qualité de coquille plus importante, le métabolisme de la vitamine D et le turn-over osseux sont stimulés. Certains paramètres pourraient être des marqueurs précoces de la qualité ultérieure de la coquille, comme la 25-OH-D_3 et le CTX. Cependant, une étude longitudinale est nécessaire pour confirmer la fiabilité et la robustesse de ces marqueurs. En parallèle, une approche globale pour étudier la régulation de la vitamine D dans les différents tissus régulateurs et effecteurs pourrait être utile pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents. Ces informations seront particulièrement utiles pour définir des stratégies alimentaires adaptées à l'âge des poules et permettant d'optimiser la qualité de la coquille et du squelette tout au long de leur carrière.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

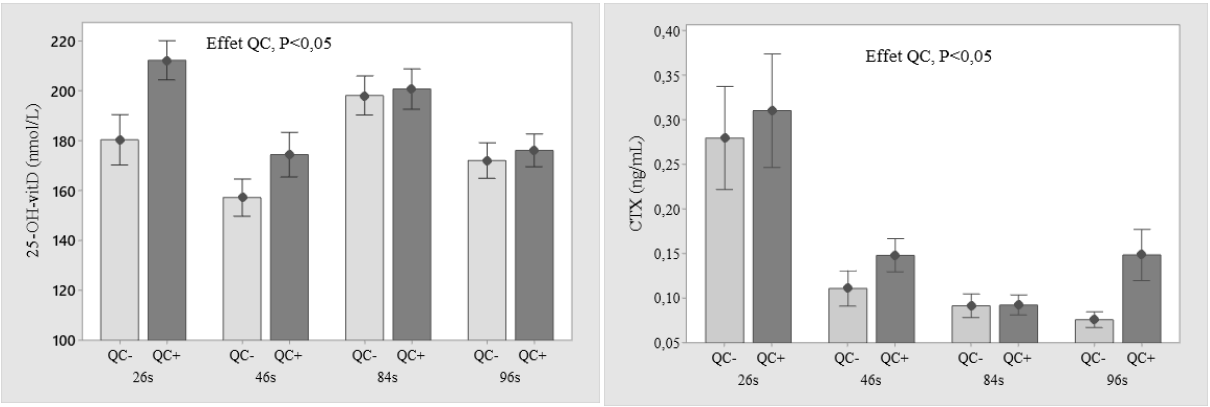
Barry E.L, 2004. J. Clin. Endocrinol. Metab. 99(10):E2133–E2137.
Bishop S., 2000. Br. Poult. Sci., 41:33–40.
Eusemann B. K., 2008. PLoS One., 13: e0194974.
Fleming R. H., 1998. Br. Poult. Sci., 39:434–440.
Gloux A., 2020. Sci. report. 10(1):21124.
Guinotte F., 1991. Poult. Sci., 70(3), 583-592.
Hu Z, 2019. J Diabetes Res., 8 pages.
Nys Y., 2018. In : Vitamin D (Elsevier Inc.) David Feldman, J. Wesley Pike, Roger Bouillon, Edward Giovannucci, David Goltzman and Martin Hewison, pp361.
Regmi P., 2016. Poult. Sci., 95:2225–2234.
Toscano M. J., 2020, Poult. Sci., 99: 4183–4194.
Whitehead C. C., 2004. Poult. Sci., .83:193–199.

Tableau 1. Analyses plasmatiques et hépatiques chez les poules présentant une bonne (QC+) ou une mauvaise (QC-) qualité de coquille à 96 semaines d'âge

	QC-	QC+	P-value*
25-OH-D_3, nmol/L	172,2 ± 26,6	176,2 ± 23,7	NS
1,25-OH-D_3, µmol/L	1050 ± 257 b	1248 ± 274 a	0,087
OC, ng/mL†	13,73 ± 6,47	10,89 ±4,34	NS
CTX, ng/mL†	0,093 ±0,07	0,149 ± 0,10	0,031
OC : CTX†	183 ± 160	105 ± 64	0,053
Ca	238,3 ± 33,5	248,7 ± 40,4	NS
P	115,8 ± 28,1	115,7 ± 21,8	NS
RQ_CYP27A1	1,37 ± 0,40	1,42 ± 0,26	NS
RQ_CYP3A4†	1,46 ± 0,32	1,81 ± 0,71	NS

OC : ostéocalcine ; CTX : C-terminal crosslinks; Ca: calcium; P: phosphore; RQ: relative quantification= $2^{-\Delta\Delta Ct}$.
Poules au même stade physiologique (entre 5 et 9h30 post-ovulation). QC-, n=14; QC+, n=13.
*ANOVA, poids de coquille en covariable.
†Transformation Log.

Figure 1. Evolution des teneurs plasmatiques en 25-hydroxy-vitamine D3 et télopeptide C-terminal du collagène de type II en fonction de l'âge des poules.



Poules au même stade physiologique (entre 5 et 9h30 post-ovulation). QC-, n=14; QC+, n=13.
Mesures répétées.

EVALUATION DE LA QUALITE DES ŒUFS PAR DES METHODES D'IMAGERIE NON INVASIVES ET NON DESTRUCTIVES

Pereira Macedo Jules Antoine[1,2], Adriaensen Hans[1,2], Lecompte François[1,2], Elleboudt Frédéric[1,2], Réhault-Godbert Sophie[3], Guyot Nicolas[3]

[1] INRAE, Université de Tours, CHU de Tours, Plate-forme PIXANIM, 37380 NOUZILLY,
[2] INRAE, CNRS, Université de Tours, IFCE, UMR PRC, 37380 NOUZILLY,
[3] INRAE, Université de Tours, UMR BOA, 37380 NOUZILLY

hans.adriaensen@inrae.fr

RÉSUMÉ

La maitrise de la qualité de l'œuf est essentielle pour la filière des œufs de consommation. Certaines altérations, liées à des facteurs externes comme l'âge des poules ou les conditions de conservation par exemple, peuvent en effet avoir des impacts négatifs d'un point de vue sanitaire et économique, notamment. Certains indicateurs de qualité interne de l'œuf sont visibles et sont pour la plupart mesurés après le cassage de l'œuf. D'autres, comme le volume de la chambre à air ou le déplacement du jaune dans l'œuf au cours du stockage sont moins facilement mesurables. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'utilisation d'outils d'imagerie tomographique (l'imagerie par résonance magnétique ou IRM pour les tissus mous, la tomodensitométrie ou CT-scan pour les tissus durs) comme méthodes non invasives et non destructives pour caractériser la qualité des œufs. Des œufs de consommation de poules Lohmann Tradition ont été collectés le jour de la ponte, stockés pendant 7, 14 et 28 jours à deux températures (4 et 20°C), analysés par IRM (détermination des volumes du blanc et du jaune, cartographie des temps de relaxation T_2) et CT-scan (volumétrie de la chambre à air), puis caractérisés avec les outils de mesures standards de la qualité de l'œuf, après cassage. Les résultats obtenus révèlent que l'imagerie peut être utilisée comme outil de mesure non invasive de la qualité interne de l'œuf tout en apportant des nouvelles possibilités de mesure de critères difficilement appréciables une fois l'œuf cassé. Les résultats de cette étude pourront permettre à terme d'envisager la création d'un nouveau référentiel de la qualité de l'œuf.

ABSTRACT

Assessment of egg quality using non-invasive and non-destructive imaging methods

The control of egg quality is essential for the egg industry. Indeed, any alterations related to external factors, such as hen age or egg storage conditions, may have serious consequences on consumer's health and/or on the economy of the egg industry. Some internal egg quality indicators are visible and are mostly measured after breaking the egg, while others (air chamber volume, yolk movement during egg storage) are less easily measurable. The objective of this work is to assess the use of tomographic imaging tools (magnetic resonance imaging or MRI for soft tissues, computed tomography or CT-scan for hard tissues) as non-invasive and non-destructive methods for the characterization of egg quality. Unfertilized eggs from Lohmann Tradition hens were collected on the day of lay, stored for 7, 14 and 28 days at two temperatures (4 and 20°C), analyzed by MRI (determination of yolk and albumen volumes, mapping of T_2 relaxation times) and CT-scan (air chamber volumetry), then characterized with standard egg quality measurement tools, after egg breaking. The results of this study show that imaging can be used as a non-invasive tool for measuring internal egg quality while providing new possibilities for measuring criteria that are difficult to assess once the egg has been broken. In the future, the results of this study may allow the creation of a new reference for egg quality.

INTRODUCTION

La maitrise de la qualité des œufs est très importante pour la filière « œufs ». Elle est sous la dépendance de facteurs liés i) aux animaux et à leur environnement (ex : souche, âge, nutrition, stress, maladie, température du milieu d'élevage…), ou ii) aux conditions de conservation des œufs (en particulier, la durée et température de stockage) (Roberts, 2004). Les premiers types de facteurs peuvent avoir des effets sur la qualité de la coquille et sur les compartiments internes, tandis que les seconds affectent uniquement la qualité interne. Des défauts de qualité des œufs peuvent avoir des conséquences très négatives, notamment au niveau sanitaire et économique.

Certains indicateurs de qualité interne des œufs s'apprécient après le cassage de l'œuf grâce à la mesure de certains paramètres, comme la hauteur du blanc, l'indice du jaune, le poids des compartiments internes (blanc, jaune), etc. D'autres comme le volume de la chambre à air ou la position ou le déplacement du jaune dans l'œuf au cours du stockage sont plus difficiles à évaluer. La qualité interne peut toutefois s'apprécier de manière non-invasive et non destructive en utilisant l'Imagerie par Résonnance Magnétique (IRM), (figure 1, A) et la tomodensitométrie (CT-scan) (figure 1, E) qui permettent de réaliser des mesures qualitatives (observation de la coquille, du blanc et du jaune d'œuf *in ovo*) et quantitatives (mesure de volumes et des temps de relaxation des compartiments internes). En IRM, chaque tissu possède un temps de relaxation intrinsèque, ce qui conduit ainsi à des différences de contraste entre le blanc et le jaune. Le temps de relaxation permet de quantifier des phases cristallines/liquides dans des aliments, de doser la quantité de matière grasse ou/et d'eau, de décrire l'organisation de l'eau au sein d'aliments et de suivre les changements de structure des macromolécules. La mesure des temps de relaxation des compartiments internes peut donc être un indicateur potentiel de la qualité interne et de la fraicheur de l'œuf.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'utilisation de l'IRM et la tomodensitométrie comme outils non destructifs et non invasifs pour la caractérisation de la qualité interne des œufs. Nous nous sommes focalisés en particulier sur les mesures de volumétrie et sur les mesures des temps de relaxation transversaux afin de voir l'évolution des macromolécules dans le blanc et le jaune, pour des œufs conservés dans différentes conditions de temps et de température. Cette étude s'inscrit dans le cadre du projet ANR EQLIPSE (Enhancing the Quality and the Level of Internal Protections of Shell Eggs, 2020-2023) dont l'un des objectifs porte sur les altérations induites par le stockage.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Production et conservation des œufs

Les œufs de l'étude proviennent de poules Lohmann Tradition de 33 semaines d'âge (pic de ponte), élevées au sol au Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (PEAT, INRAE, Nouzilly, France). Quatre lots de 30 œufs (120 œufs au total) ont été stockés pendant 0, 7, 14 ou 28 jours. A chaque temps de conservation (J_7, J_{14} et J_{28}), 15 œufs ont été stockés à 4°C (environ 75-85% d'humidité relative ou HR) et 15 autres à 20°C (50% HR) dans des enceintes climatiques (Type ICH260, Memmert, Schwabach, Allemagne).

1.2. Imagerie des œufs par IRM et CT-scan

1.2.1. Equipements

L'imagerie des œufs a été faite à l'aide d'un appareil IRM 3 Teslas (T) (Siemens, Magnetom Verio, Erlangen, Allemagne) équipé d'un gradient de champ magnétique de 45 mT/m pour l'observation du blanc et du jaune, et à l'aide d'un tomodensitomètre ou CT (Computed Tomography)-scan (Siemens, définition AS 128, Germany) pour l'observation de la coquille et les mesures de volume de la chambre à air.

1.2.1. Volumétrie

Huit plateaux de 15 œufs ont été imagés en IRM afin de déterminer les volumes du blanc et du jaune de l'œuf. Ces mêmes plateaux ont été imagés au CT-scan afin de caractériser le volume de la chambre à air située sous la coquille, généralement au niveau du gros bout de l'œuf. Pour ce faire, le traitement des images est réalisé avec le logiciel ITK-snap (Version 3.8.0) (Paul A. *et al.*, 2006*)*, pour permettre la segmentation du blanc, du jaune et de la chambre à air.

1.2.2. Détermination des temps de relaxation T_2

Soixante œufs ont été imagés, répartis en 4 plateaux de 15 œufs. Les œufs sont issus de poules âgées de 33 semaines correspondant au pic de ponte. Trente œufs ont été imagés le jour de la ponte (J_0) et 30 œufs ont été imagés après 28 jours de conservations (J_{28}) à 4°C et 20°C.

La relaxation T_2 dans le blanc et le jaune suit une loi de décroissance bi-exponentielle, avec deux composantes T_2 (longue et courte) (Mitsouras *et al.*, 2016), selon l'équation :

$I_{ntensité} = M_{0\ long} \times \exp(-TE/T_{2\ long}) + M_{0\ court} \times \exp(-TE/T_{2\ court}) + \text{constante}$.

L'estimation des temps de relaxation a été réalisée grâce à un script développé *in situ* à l'aide d'algorithmes exécutés avec le logiciel Matlab (R2012b), permettant d'isoler chaque œuf du plateau, puis d'estimer les temps de relaxation long $T_{2\ long}$, $T_{2\ court}$ et les pourcentages relatifs des protons de l'eau tissulaires $M_{0\ long}$ et $M_{0\ court}$ correspondant aux temps de relaxation T_2 respectivement long et court. Pour chaque plateau, 19 coupes transversales (voir figure 1A, en rouge) successives (et couvrant la quasi-totalité de l'œuf) ont été traitées pour chaque œuf. Pour chaque coupe, 32 images (ayant chacune un Temps d'Echos (TE) différents) ont été combiné. Le

TE s'échelonne de 9,4 ms à 300,8 ms au pas de 9,4 ms. Le programme crée un masque binaire afin de séparer le blanc et le jaune. La nouvelle image obtenue conserve uniquement les pixels de l'image correspondant au blanc ou au jaune. Puis une fonction 'dictionnaire' a été créée afin d'ajuster chaque pixel du masque, par la fonction de décroissance bi-exponentielle décrite ci-dessus. Le principe de cette fonction est d'estimer chaque pixel à l'aide d'un dictionnaire de valeurs créées avec des intervalles de valeurs minimum et maximum pour $T_{2\ court}$, $T_{2\ long}$, $M_{0\ court}$ et $M_{0\ long}$. Ces valeurs sont ensuite transcrites dans la fonction de décroissance bi-exponentielle, qui prend la valeur qui minimise l'erreur, entre la valeur de la fonction et la valeur brute du pixel, puis les valeurs des paramètres correspondants en sont déduites. Les intervalles sont choisis en fonction de l'étude de Mitsouras *et al.* (2016) et vérifié à l'aide du logiciel d'ajustement de courbes TableCurve2D (TableCurve 2D Version 5.01, SYSTAT Software Inc. 2002). Ce dernier permet de faire des estimations pour les paramètres des T_2 et M_0 à l'aide d'une moyenne de valeurs de pixels sur une région d'intérêt bien définie. Les figures 1B et 1C, construites avec Matlab, représentent des valeurs fournies par la fonction dictionnaire aux pixels d'un blanc et d'un jaune d'œuf pour une coupe bien précise représentée schématiquement en rouge dans la figure 1A. Après avoir estimé chacun des pixels du masque binaire, une moyenne est calculée afin d'avoir une valeur correspondante aux temps de relaxations (T_2) courts et longs dans le blanc et dans le jaune ainsi que les paramètres M_0. L'opération est répétée pour chacune des coupes pour en effectuer la moyenne par la suite.

1.4. Analyses statistiques

La distribution des différents types de données a été évaluée par un test de normalité de Shapiro-Wilk. Des tests de comparaisons non paramétriques de Wilcoxon ont été réalisés sur les médianes pour comparer les différents lots. Des tests de corrélations non paramétriques par la méthode de Spearman ont été réalisés entre les différents poids et volumes du blanc et du jaune, ainsi qu'entre le volume de la chambre à air et la perte de poids et pour finir entre les valeurs $T_{2\ court}$ et $T_{2\ long}$. De plus des régressions linéaires ont été faites afin de voir le rapport entre les volumes et les poids du blanc et du jaune ainsi qu'entre la perte de poids et le volume de la chambre à air. Un résultat avec une valeur de p inférieure à 0,05 (5%) est considéré comme statistiquement significatif. Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Rstudio (Version 1.1.456).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Volumétrie

Dans la première partie de l'étude, nous avons cherché à évaluer le niveau de précision des mesures volumétriques obtenues par les méthodes d'imagerie, et leur utilisation potentielle comme indicateur de qualité et/ou de fraicheur de l'œuf. Nous nous sommes intéressés à trois compartiments internes : le blanc, le jaune et la chambre à air. Les poids du blanc et du jaune sont des paramètres souvent utilisés pour caractériser les œufs. Ils nécessitent de casser l'œuf et d'isoler chaque compartiment. La mesure directe du poids du blanc est néanmoins compliquée et approximative en raison de sa nature collante et des résidus qui restent fixés à la coquille de l'œuf et au séparateur après le cassage. Il peut cependant être estimé de façon plus précise mais indirecte, en retranchant les poids coquille (soigneusement lavées) et de jaune au poids de l'œuf entier. Le volume de la chambre à air est un critère inversement corrélé à la fraicheur de l'œuf et qui augmente en fonction du temps de stockage. Cependant à notre connaissance, il n'existe pas de techniques simples de quantification directe. Son volume peut néanmoins être approximé sur des œufs stockés par la détermination de la perte de poids de l'œuf, ce qui nécessite de peser les mêmes œufs à J0 et après stockage et ce qui manque de précision.

Pour les volumes du blanc, du jaune et de la chambre à air déterminés à l'aide de l'IRM et du CT-scan, des tests de corrélations des poids du blanc, du jaune et de la perte de poids des œufs mesurés. Les résultats obtenus sur les données des deux températures de stockage sont présentés dans la Figure 2. Le poids du blanc et le volume du blanc sont corrélés positivement ($p < 0,05$, $\rho = 0,798$; Figure 2A) ainsi que le poids et le volume du jaune ($p < 0,05$, $\rho = 0,762$; Figure 2B) et la perte de poids et le volume de la chambre à air jaune ($p < 0,05$, $\rho = 0,998$; Figure 2C). Des régressions linéaires ont été faites avec des coefficients proches de 1 pour le blanc (coeff = 1,01, R^2 ajusté = 0,997 ; Figure 2A), le jaune (coeff = 1,02, R^2 ajusté = 0,9967 ; Figure 2B), et la chambre à air (coeff = 1,06, intercept = -0,29, R^2 ajusté = 0,996 ; Figure 2C). Les différentes données volumétriques issues de l'imagerie sont donc cohérentes avec les données de poids mesurées au laboratoire. Une forte corrélation est observée entre les méthodes utilisées, notamment avec la chambre à air où la corrélation est proche de 1.

Les volumes/poids des compartiments d'un œuf évoluent au cours du stockage, notamment en raison de mouvements de l'eau au sein de l'œuf. En effet, une partie de l'eau contenue dans le blanc pénètre dans le jaune et/ou s'évapore par les pores de la coquille. Il en résulte donc une diminution du poids/volume du blanc, une augmentation du volume de la chambre à air et une légère augmentation du poids/volume de jaune au cours du temps. La répartition des données volumétriques en fonction des différents temps de stockage (J0, J7, J14, J28) est présentée dans la figure 2. Les différents lots se différencient peu pour le blanc (Fig. 2A) et le jaune (Fig. 2B) car les données sont très variables. L'absence de distinction entre groupes est probablement liée aux variations trop faibles des volumes/poids de ces deux compartiments au cours du

stockage. Au contraire, les variations du volume de la chambre en fonction du temps de stockage sont très nettes (Fig. 2C), avec des sous-groupes visibles correspondant aux deux températures de stockage (4°C et 20°C). Ce dernier paramètre pourrait constituer un critère de choix pour évaluer la qualité et la fraicheur interne des œufs à l'aide des outils d'imagerie. Des tests de comparaison entre groupes doivent cependant être réalisés pour évaluer le niveau de significativité des différences observées.

2.2. Temps de relaxation

Dans la deuxième partie de cette étude, l'objectif était de caractériser les temps de relaxation T_2 (longs et courts) du blanc et du jaune dans des œufs frais et stockés pendant 28 jours à 4°C ou 20°C, afin d'évaluer si ces paramètres peuvent permettre de prédire la qualité interne des œufs. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau 1. Les tests de normalité de Shapiro-Wilk appliqués à nos données ont montré que les échantillons ne suivaient pas une loi normale. Des tests statistiques non paramétriques ont donc été utilisés. Les variables ($T_{2\ long}$, $T_{2\ court}$ pour le blanc et le jaune d'œuf) ont ainsi été analysées avec le test bilatéral de Wilcoxon, avec pour hypothèse H_0 : la différence des médianes est égale à 0, hypothèse H_1 : la différence des médianes est différente de 0. Un test de corrélation entre le $T_{2\ court}$ et le $T_{2\ long}$ par la méthode de Spearman a également été réalisé avec les hypothèses suivantes : H0 : le coefficient de corrélation ρ est égale à 0 et hypothèse H1 : le coefficient de corrélation ρ est différent de 0.

Les résultats sur le blanc montrent que le $T_{2\ long}$ des œufs conservés 28 jours à 20°C est significativement plus faible que les valeurs mesurées à J0 ($p = 0,002$) et à J28/4°C ($p=0,013$). Aucune différence significative n'est observée entre ces deux dernières conditions. Pour le $T_{2\ court}$ (tableau 1), les valeurs des œufs conservés 28 jours à 4°C et 20°C ne sont pas statistiquement différentes, mais sont supérieures au $T_{2\ court}$ mesuré à J0 avec un haut niveau de significativité ($p<0,001$). La corrélation entre le $T_{2\ court}$ et le $T_{2\ long}$ du blanc est significative ($p<0,05$) avec un coefficient de corrélation $\rho = -0,61$, qui reste faible. Lorsque le $T_{2\ long}$ augmente, le $T_{2\ court}$ a tendance à diminuer mais le coefficient n'est pas suffisamment proche de -1 pour en conclure qu'une diminution du $T_{2\ long}$ dans le blanc engendre systématiquement une augmentation du $T_{2\ court}$.

Les résultats sur le jaune montrent que le $T_{2\ long}$ est significativement inférieur dans les œufs conservés 28 jours à 20°C en comparaison des œufs frais (J0) ($p = 0,012$). Les valeurs de $T_{2\ court}$ du jaune dans les œufs stockés à 4°C et 20°C ne sont pas statistiquement différentes ($p = 0.098$) mais sont en revanche supérieures au $T_{2\ court}$ des œufs frais (J0) à un niveau très significatif ($p<0,0001$). La valeur p du test de corrélation entre le $T_{2\ long}$ et le $T_{2\ court}$ du jaune par la méthode de Spearman est de 0,012, ainsi on rejette l'hypothèse H0 en faveur de H1 avec un coefficient de corrélation $\rho = -0,22$, ce qui est un coefficient de corrélation relativement faible. On ne peut donc pas conclure que la diminution du $T_{2\ long}$ dans le blanc engendre systématiquement une augmentation du $T_{2\ court}$.

CONCLUSION

Nos travaux ont montré de fortes corrélations entre les volumes des compartiments internes calculés à l'aide des techniques d'imagerie (IRM et CT-scan) et les mesures réalisées par des méthodes conventionnelles, notamment entre le volume de la chambre à air (indicateur de fraicheur) et la perte de poids des œufs au cours du stockage. Nous avons également montré que la détermination des composantes longues et courtes des temps de relaxation T_2 dans le jaune et le blanc pouvait être intéressante pour caractériser la qualité interne de l'œuf car des modifications de certains de ces paramètres ont été observées au cours du stockage dans les deux compartiments de l'œuf. Ces premiers résultats suggèrent donc qu'il est possible d'évaluer la qualité interne et/ou la fraicheur des œufs de façon non invasive, sans avoir à casser les œufs, grâce aux méthodes d'imagerie de type IRM et CT-scan qui permettent de quantifier des paramètres difficilement appréciables par les approches standards. Des tests de corrélation avec d'autres indicateurs de fraicheur et de qualité interne (unités Haugh, pH du blanc, indice du jaune…) sont en cours afin de confirmer ces résultats et évaluer le niveau de précision des paramètres acquis en imagerie pour prédire la qualité interne des œufs. Au regard des objectifs fixés dans le projet ANR EQLIPSE, l'évolution de ces paramètres sera également étudiée en fonction des périodes du cycle de ponte.

REMERCIEMENTS

Ces expérimentations ont été réalisées dans le cadre du contrat ANR EQLIPSE (Enhancing the Quality and the Level of Internal Protections of Shell Eggs, ANR-19-CE21-0006). Les auteurs remercient l'ANR, le CNPO et le SNIPO pour leur soutien financier, l'ITAVI et le Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (PEAT, INRAE, Nouzilly, DOI : 10.15454/1.5572326250887292E12) pour l'élevage des poules pondeuses et la fourniture des œufs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Roberts J., 2014. J Poult Sci (41) 161-77.
Paul A. et al, 2006. Neuroimage, 1;31(3):1116-28.
Mitsouras D., Mulkern R.V. and Maier S.E., 2016. Magn Reson.Med, (75), 2156-2164.

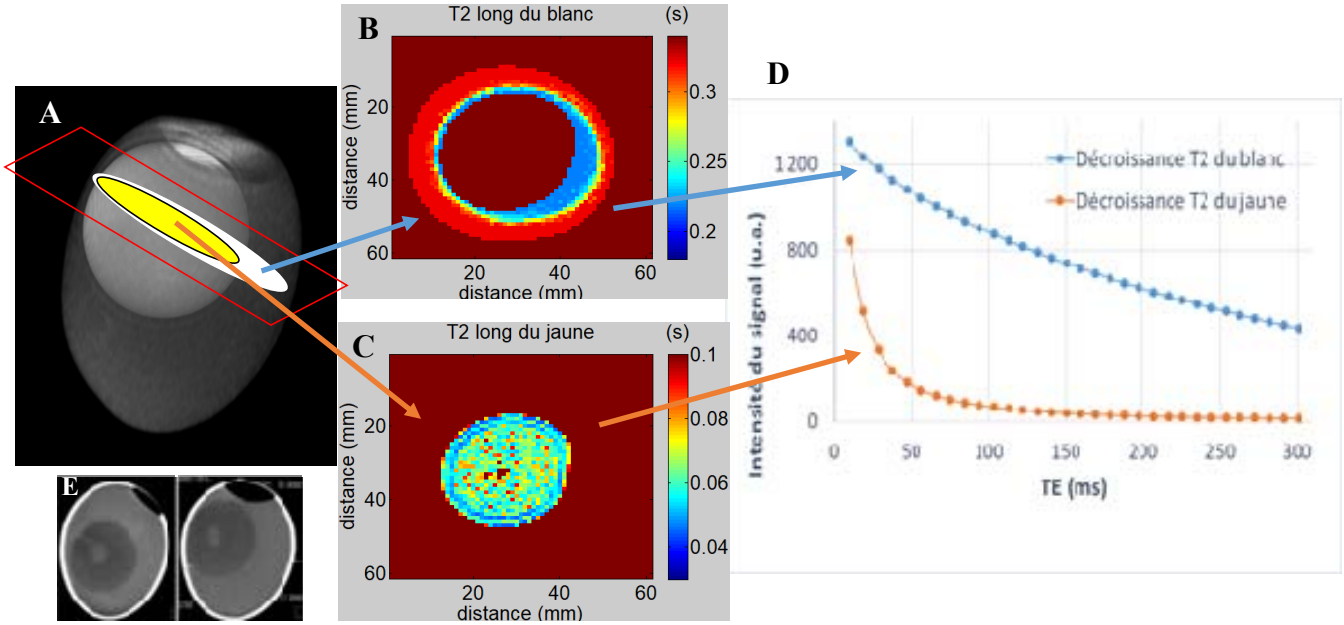


Figure 1. A) Visualisation 3D d'un œuf imagé à l'IRM avec une représentation schématique d'une coupe transversale (en rouge) du jaune (en jaune) et du blanc (en blanc). B) Valeurs T_2 pour chaque pixel du blanc calculé dans Matlab. C) Valeurs T2 pour chaque pixel du jaune calculé dans Matlab. D) Exponentielle décroissante T_2 pour le blanc (en bleu) et le jaune (en orange) d'œuf. E) Illustration d'images CT d'un plan d'œuf frais (à gauche) et d'œuf stocké à 1 semaine -J7 (à droite) à 20°C, il est à noter ici que le jaune d'œuf migre vers le haut au cours du temps de stockage.

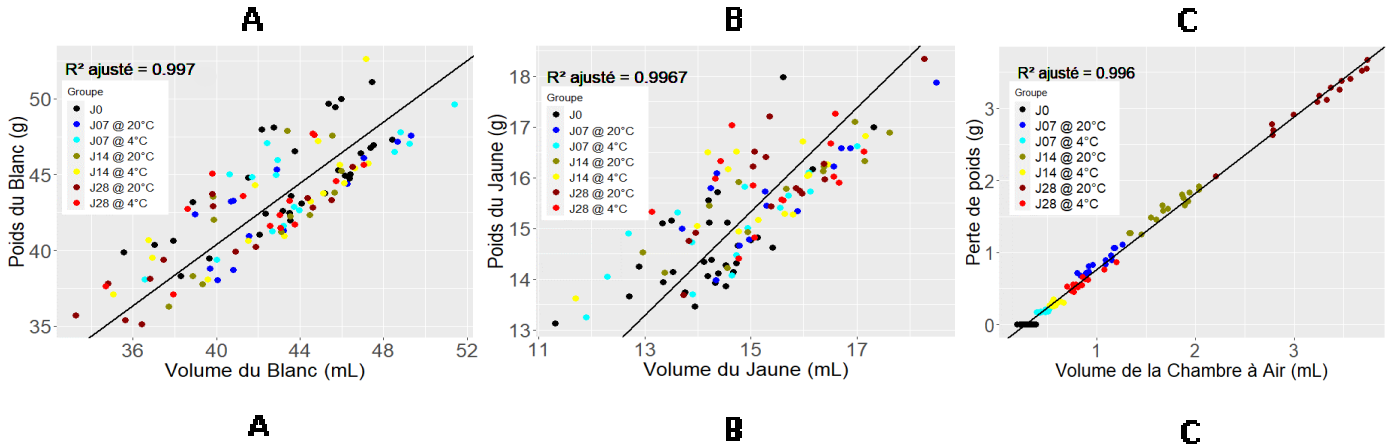


Figure 2. Relations entre différents paramètres de qualité interne des œufs déterminés par les méthodes conventionnelles et les méthodes d'imagerie. (A) Poids du blanc vs. Volume du blanc. (B). Poids du jaune vs. Volume du jaune. (C) Perte de poids de l'œuf vs. Volume de la chambre à air.

	Blanc			Jaune		
	J_0	J_{28}		J_0	J_{28}	
Températures	/	4°C	20°C	/	4°C	20°C
$T_{2\ long}$ (ms)	$271,5 \pm 7,08^{A}$	$271,3 \pm 18,6^{A}$	$249,9 \pm 30,1^{B}$	$64,1 \pm 1,7^{A}$	$63,7 \pm 1,7^{AB}$	$63,0 \pm 1,6^{B}$
$T_{2\ court}$ (ms)	$21,3 \pm 2,36^{B}$	$25,3 \pm 3,3^{A}$	$28,3 \pm 5,6^{A}$	$11,6 \pm 0,4^{B}$	$12,7 \pm 0,6^{A}$	$13,0 \pm 0,7^{A}$

Tableau 1. Tableau de mesure des moyennes (± écart-types) des temps de relaxation T_2 longs et courts du blanc et du jaune dans des œufs frais (J0) et stockés (J28) à 4°C et 20°C. Les différences significatives observées en fonction des conditions de stockage pour un même paramètre ($T_{2\ long}$ ou $T_{2\ court}$) et un même compartiment (blanc ou jaune) sont indiquées par des lettres différentes.

SESSION

SYSTEMES D’ELEVAGE - MANAGEMENT - BIEN-ETRE ANIMAL

SESSION

SYSTEMES D'ELEVAGE – MANAGEMENT - BIEN-ETRE ANIMAL

Posters

IMPACT DE L'AGE ET DE LA SOUCHE SUR LE STATUT ANTIOXYDANT DU POULET DE CHAIR

Coudert Edouard[1], Baéza Elisabeth[1*], Jimenez Justine[1], Cailleau-Audouin Estelle[1], Bordeau Thierry[1], Chartrin Pascal[1], Berri Cécile[1]

[1]INRAE, Université de Tours, UMR BOA, Nouzilly, France

*elisabeth.baeza-campone@inrae.fr

RÉSUMÉ

La production de poulets standards utilise des souches à croissance rapide avec un rendement en viande élevé. Du fait de ces caractéristiques, ces animaux sont réputés moins robustes face à d'éventuelles pathologies ou des perturbations des conditions d'élevage que les souches à croissance plus lente utilisées pour la production Label Rouge. Par ailleurs, les systèmes de défense des animaux se développent avec l'âge mais peu d'études ont analysé la cinétique d'évolution de la réponse anti-oxydante. L'objectif de la présente étude était de mesurer les capacités de défense anti-oxydante des poulets au cours des premières semaines de développement pour deux souches d'animaux présentant des vitesses de croissance différentes (standard et Label Rouge). Des poulets de ces deux souches ont été mis en élevage en conditions contrôlées. De 1 à 42 jours, des prélèvements de foie, muscles (filet et cuisse) et sang ont été effectués chaque semaine sur 10 animaux de chaque souche. Plusieurs paramètres impliqués dans la réponse anti-oxydante ont été mesurés sur ces différents tissus. L'activité des enzymes impliquées dans la défense anti-oxydante est très élevée à l'éclosion puis diminue jusqu'à J7 ou J14 dans le foie et les muscles étudiés des deux souches. La valeur du statut antioxydant total et l'activité de la superoxyde dismutase augmentent à partir de J28 uniquement dans les muscles de ces deux souches. Les muscles des animaux Label Rouge présentent une peroxydation lipidique et une activité de la superoxyde dismutase plus élevées que les muscles des animaux standards. La capacité anti-oxydante des animaux est élevée au moment de l'éclosion en lien avec le métabolisme énergétique plutôt oxydatif des animaux. Cette capacité diminue rapidement au cours de la première semaine, en particulier dans le foie et le plasma. Elle augmente ensuite dans les muscles en lien avec leur développement post éclosion. L'effet de la souche est variable selon le paramètre étudié et l'âge des animaux. La souche standard a une activité oxydative musculaire et donc une réponse anti-oxydante moindre que celle de la souche Label Rouge. Néanmoins, l'âge a beaucoup plus d'impact que la souche sur la capacité anti-oxydante des poulets.

ABSTRACT
Effect of age and breed on the antioxidant status of chicken

The production of standard chickens uses fast growing strains with high meat yield. Because of these characteristics, these animals are considered less robust in the face of possible pathologies or disturbances of the breeding conditions than the slower growing strains used for Label Rouge production. Furthermore, animal defence systems develop with age, but few studies have analysed the kinetic evolution of the antioxidant response. The objective of this study was to measure the capacity of chicken antioxidant defence during the first weeks of development for two strains presenting different growth rates (standard and Label Rouge). Chickens of these two strains were reared under controlled conditions. From 1 to 42 days of age, samples of liver, muscles (breast and thigh) and blood were taken each week from 10 animals of each strain. Several parameters involved in the antioxidant response were measured on these different tissues. The activity of enzymes involved in antioxidant defence was very high at hatching and then decreased until D7 or D14 in the liver and muscles of the two strains. The value of total antioxidant status and superoxide dismutase activity increased from D28 only in the muscles of the two strains. The muscles of Label Rouge chickens had higher lipid peroxidation and superoxide dismutase activity than the muscles of standard chickens. At hatching, the antioxidant capacity of animals was high in connection with the rather oxidative energy metabolism of animals. This capacity decreased quickly during the first week, particularly in the liver and plasma. It then increased in the muscles in connection with their post-hatching development. The effect of the strain was variable depending on the measured parameter and animal age. The standard strain had less muscle oxidative activity and therefore a lower antioxidant response than those of the Label Rouge strain. Nevertheless, the age had much higher impact than strain on the antioxidant capacity of chickens.

INTRODUCTION

En élevage, les volailles sont confrontées à différents types de stress qu'ils soient environnementaux (froid, chaleur, ventilation excessive), technologiques (stockage prolongé des œufs avant éclosion, délai de mise en place des poussins après éclosion, densité élevée en élevage), nutritionnels (transitions alimentaires, mycotoxines, huile oxydée, métaux toxiques, apport en oligo-éléments insuffisant) ou sanitaires (pathologies, vaccinations) (Surai *et al*., 2019). Les volailles sélectionnées pour une vitesse de croissance rapide et un rendement en viande élevé sont plus sensibles au stress oxydatif (Soleimani *et al*., 2011 ; Petracci *et al*., 2019). Les souches utilisées en production Label Rouge ont des vitesses de croissance plus lentes et sont réputées plus robustes. En principe, les oiseaux sont équipés de systèmes de défense anti-oxydante (enzymes, glutathion, vitamines, minéraux, etc.) qui leur permettent de maintenir l'équilibre redox au niveau cellulaire et tissulaire (Surai *et al*., 2019). Chez les volailles, le développement de ces systèmes au cours des premières semaines de croissance post-éclosion a fait l'objet de peu d'études. Yang *et al.* (2016) ont mesuré différents marqueurs (teneurs en glutathion (GSH), malondialdéhyde (MDA, marqueur de peroxydation des lipides) et carbonyles (marqueur d'oxydation des protéines), activité de la glutathion peroxydase (GPx), capacité anti-oxydante totale (T-AOC)) dans le plasma de poulets à jeun depuis 12 h, et aux âges de 14, 21 et 28 jours. Ils n'ont pas mis en évidence de variation significative de ces marqueurs aux âges étudiés. Il semblerait que le potentiel antioxydant diminue fortement au cours des 10 premiers jours post-éclosion et que cela soit compensé par une augmentation de l'activité de la GPx dans le foie (Schoonheere et Istasse, 2006). Surai *et al.* (1998) ont observé chez différentes espèces aviaires (poulet, dinde, canard et oie) une forte diminution de la concentration hépatique en vitamine E, au cours des deux premières semaines de croissance post-éclosion. Entre 21 et 42 jours, Del Vesco *et al.* (2017) ont montré que dans le foie, la concentration en GSH était diminuée et que l'activité catalase augmentait alors que la valeur du TBARS (Thio-Barbituric Acid Reactive Substances, marqueur de peroxydation des lipides) et l'activité de la GPx n'étaient pas modifiées. Mahmoud et Edens (2003) ont mesuré dans le sang de poulets les différentes formes de glutathion (oxydé et réduit, GSSG et GSH) et les activités de la GPx et de la glutathion réductase (GR) aux âges de 2, 3 et 4 semaines. La concentration en GSH et l'activité GPx diminuent avec l'âge alors que l'activité GR augmente. Les études publiées s'intéressent donc à un âge donné, un tissu spécifique ou une réponse à un stress oxydant précis. L'objectif de la présente étude était de mesurer les capacités de défense anti-oxydante des poulets au cours des premières semaines de développement pour deux souches d'animaux utilisées couramment en production avicole et présentant des vitesses de croissance différentes.

1. MATERIEL ET METHODES

120 poulets mâles de souche standard Ross 308 (ST) et 120 poulets mâles de souche Label Rouge JA 657 (LR) ont été mis en élevage dans deux parquets différents à l'unité expérimentale PEAT du centre INRAE Val de Loire. Ils ont été achetés au couvoir Boyé, sexés et vaccinés contre la Marek et la Bronchite Infectieuse et bagués individuellement à l'âge de 3 jours. Les poulets ont eu accès à l'aliment de façon *ad libitum* pendant toute la durée de l'élevage. Il y a eu 3 phases d'alimentation : démarrage (1-14 jours), croissance (15-28 jours) et finition (29-42 jours). La teneur en vitamine E des aliments était de 20 ppm (apport suffisant pour couvrir les besoins de croissance) pour ne pas interférer avec les défenses anti-oxydantes des poussins.

A l'âge de 1 jour, avant la mise en place en parquet, 20 poulets de chaque souche (soit 40 poulets au total), choisis au hasard, ont été sacrifiés en alternant les souches entre chaque poussin. Du sang a été prélevé au sinus occipital pour récupérer ensuite le plasma ainsi que les muscles *Pectoralis major,* les muscles des cuisses et le foie. Les échantillons ont été congelés aussitôt dans l'azote liquide puis stockés à -80°C. Aux âges de 7, 14, 21, 28, 35 et 42 jours, 10 animaux ont été sacrifiés pour effectuer les mêmes prélèvements. Huit heures avant ces prélèvements, les animaux étaient mis à jeun mais avaient un accès *ad libitum* à l'eau.

Sur les échantillons de plasmas, les activités SOD (SuperOxide Dismutase), GPx (Glutathion peroxidase), GR (Glutathion reductase), les hydroperoxydes, l'activité peroxydase et le TAS (Total Antioxidant Status) ont été mesurées en utilisant un automate (Arena 20XT, Thermo Scientific) et des kits commerciaux. L'indice TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) a été déterminé par la méthode de Lynch et Frei (1993) pour estimer la peroxydation des lipides. Des métabolites ont également été mesurés avec l'automate Arena et des kits spécifiques : glucose, β-hydroxybutyrate (β-OH), acides gras libres (AGL), acide urique, triglycérides. Le dosage de la vitamine E a été réalisé en utilisant l'HPLC après une extraction de la phase organique avec de l'hexane (Faculté de Médecine, Marseille). Sur les tissus, les marqueurs SOD, GPx, GR, catalase, TAS, TBARS ont été mesurés comme décrits précédemment.

Sur l'ensemble des paramètres mesurés, l'effet de la souche et de l'âge et leur interaction ont été testés par analyse de variance avec un $P < 0.05$ (logiciel Statview).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'évolution de métabolites et de marqueurs du statut antioxydant dans le plasma est présentée dans les

Figures 1 et 2 et l'ensemble des résultats est synthétisé dans le Tableau 1.

2.1. Effet de l'âge sur les marqueurs du statut antioxydant et des métabolites plasmatiques

A J1, la concentration du plasma en triglycérides est élevée car pendant leur développement embryonnaire les poussins ont utilisé comme source majeure d'énergie, les lipides stockés dans le jaune d'œuf puis dans leur foie ce qui explique les teneurs croissantes en AGL mesurées dans le plasma au cours des premières semaines post éclosion et une peroxydation des lipides plus importante. Dans le foie, l'indice TBARS est également plus élevé à J7 qu'aux autres âges pour les deux souches étudiées (2.93 vs. 1.49 à 2.06 mg eq. MDA/kg). Dans le muscle pectoral et les muscles de la patte, l'indice TBARS est élevé à J1 et J7 puis il diminue jusqu'à J21 ou J28 (-86% et -45%, respectivement) et se stabilise. La concentration en hydroperoxydes et l'activité peroxydase dans le plasma sont élevées à J1 puis elles diminuent rapidement jusqu'à J14. Afin de limiter cette production d'hydroperoxydes, l'activité GPx dans le plasma augmente entre J7 et J14. Dans le foie, l'activité GPx diminue de J1 à J14 (-38%). Elle augmente ensuite jusqu'à J28 (+49%) et se stabilise. Dans les muscles de la patte et le muscle *P. major*, l'activité GPx diminue jusqu'à J7 ou J14 (-8% et -17%, respectivement) puis reste stable. L'activité GR dans le plasma, le foie et les muscles est élevée lors de l'éclosion ce qui permet de régénérer le glutathion puis elle diminue au cours des premières semaines post éclosion. Elle augmente de nouveau à J28 et J35 pour la souche ST. L'activité catalase est élevée à J1 dans le foie et les muscles. Elle diminue rapidement au cours de la première semaine pour le foie et le muscle *P. major* (-26% et -89%, respectivement) et après J28 pour les muscles de la patte (-66%). L'activité SOD du plasma est stable avec juste une augmentation à J35. Dans le foie, l'activité SOD diminue avec l'âge (–65% entre J1 et J42) alors qu'elle augmente dans les muscles entre J1 et J7 (x 2,3 et 2,7) puis se stabilise. Malgré cette activité oxydative importante au cours de la première semaine post-éclosion, la valeur du TAS dans le plasma est stable quel que soit l'âge. Cela pourrait être dû à l'utilisation de la vitamine E dont la concentration dans le plasma diminue fortement. Dans le foie, la valeur du TAS est stable également avec une augmentation uniquement à J21. La valeur du TAS augmente dans les muscles de la patte au cours de la première semaine post-éclosion (+22%) pour accompagner l'activité locomotrice des poussins puis se stabilise. Dans le muscle *P. major*, la valeur du TAS augmente avec l'âge et accompagne le développement musculaire (+69% entre J1 et J42). La glycémie et les concentrations plasmatiques en β-OH et acide urique sont peu ou pas affectées par l'âge.

Nos résultats suggèrent que la capacité anti-oxydante des animaux est élevée au moment de l'éclosion en lien avec le métabolisme énergétique plutôt oxydatif des animaux et le besoin élevé en énergie. Puis, cette capacité diminue rapidement au cours de la première semaine en particulier dans le foie et le plasma. Elle augmente ensuite dans les muscles en lien avec leur développement post éclosion.

2.2. Effet de la souche sur les marqueurs du statut antioxydant et des métabolites plasmatiques

De J1 à J14, la souche ST a une teneur en triglycérides plasmatiques plus élevée que celle de la souche LR. La concentration du plasma en AGL est plus faible pour la souche LR ce qui suggère une activité de lipolyse moins importante ou une oxydation supérieure. En effet, la peroxydation lipidique est supérieure dans le muscle pectoral et les muscles de la patte pour les animaux LR et ce jusqu'à J21 et J28, respectivement. Ceci serait plus en lien avec le métabolisme énergétique des muscles de poulets LR dont l'activité oxydative est supérieure à celle des poulets ST du fait d'une activité physique plus importante (Castellini *et al*., 2002). En revanche, la peroxydation des lipides dans le plasma et le foie n'est pas affecté par la souche. Il en est de même pour la concentration en hydroperoxydes et l'activité peroxydase dans le plasma. Par ailleurs, à J1, la concentration du plasma en acide urique est plus élevée pour la souche LR ce qui suggère un catabolisme protéique plus important. Les poussins des deux souches ont été mis en élevage le même jour mais il est possible que ceux de la souche LR aient éclos plus tôt que ceux de la souche ST d'où un épuisement plus important de leurs réserves énergétiques à J1 et l'obligation d'accroître leur catabolisme protéique. A J14 et J21, c'est la souche ST qui présente la concentration du plasma en acide urique la plus importante suggérant un turnover protéique supérieur probablement pour permettre le développement rapide des muscles pectoraux. L'activité GPx est peu affectée par la souche. Pour l'activité GR dans le plasma, la souche ST a des valeurs plus élevées à J35 et J42 que la souche LR. Dans le foie et les muscles de la patte, la souche n'a pas d'effet sur l'activité GR. Par contre, la souche ST a une activité GR supérieure à celle de la souche LR dans le muscle *P. major*. Dans le plasma, le foie, le muscle *P. major* et les muscles de la cuisse, la souche ST présente une activité SOD inférieure à celle de la souche LR qui a une activité locomotrice plus importante que celle de la souche ST. A contrario, dans le foie, la souche ST a une activité catalase supérieure à celle de la souche LR. La souche n'a pas d'effet sur l'activité catalase des muscles. Au cours de la première semaine post-éclosion, la souche LR présente une valeur de TAS, dans le plasma, supérieure à celle de la souche ST alors que sa concentration en vitamine E est plus faible. De J14 à

J28, c'est la souche ST qui présente la valeur de TAS dans le plasma la plus élevée. Ensuite, il n'y a plus d'effet de la souche. La souche n'a pas d'effet sur la valeur de TAS dans le foie. Dans les muscles de la patte, la valeur de TAS est inférieure pour la souche LR à celle mesurée pour la souche ST peut-être en lien là aussi avec une activité locomotrice et un métabolisme oxydatif supérieurs. Dans le muscle *P. major*, il n'y a pas de différence entre souches pour la valeur du TAS. Castellini *et al.* (2002) avaient mesuré des niveaux de peroxydation (indice TBARS) supérieurs dans les muscles de poulets à croissance lente plus riches en pigments héminiques et présentant un métabolisme oxydatif au niveau des pattes plus important que ceux des poulets à croissance rapide. Barbaresi *et al.* (2019) ont montré que les teneurs en carnosine et ansérine (peptides présentant des propriétés anti-oxydantes) des muscles de poulets à croissance lente étaient supérieures à celles des muscles de poulets à croissance rapide à leur âge d'abattage respectif. Enfin, la glycémie et la concentration plasmatique en β-OH ne sont pas affectées par la souche.

CONCLUSION

Nos résultats suggèrent que la capacité anti-oxydante des animaux est élevée au moment de l'éclosion en lien avec le métabolisme énergétique plutôt oxydatif des animaux. Cette capacité diminue rapidement au cours de la première semaine en particulier dans le foie et le plasma. Elle augmente ensuite dans les muscles en lien avec leur développement post éclosion. Les poussins sont donc plus sensibles à des stress oxydatifs au cours des premières semaines de croissance. L'effet de la souche est variable selon le paramètre étudié et l'âge des animaux. La souche ST a un métabolisme musculaire moins oxydatif que celui de la souche LR et donc une activité de peroxydation des lipides moindre. Néanmoins, l'âge a plus d'impact que la souche sur la capacité anti-oxydante des poulets.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet d'avenir SAGA financé par FranceAgriMer. Nous remercions le personnel de PEAT (INRAE Nouzilly) et plus particulièrement N. Besné, P. Ganier et O. Callut pour la fabrication des aliments, l'élevage des animaux et leur participation au prélèvement des échantillons. Nous remercions aussi Patrick Borel et Charlotte Halimi (Faculté de Médecine de Marseille) pour le dosage de la vitamine E dans le plasma.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Barbaresi S., Maertens L., Claeys E., Derave W., De Smet S., 2019. J. Food Sci. Agricult., 99, 5680-5686.
Castellini C., Mugnai C., Dal Bosco A., 2002. Meat Sci., 60, 219-225.
Del Vesco A.P., Khatlab A.S., Goes E.S.R., Utsunomiya K.S., Vieira J.S., Oliveira Neto A.R., Gasparino E., 2017. Anim., 11 (10), 1783-1790.
Lynch S.M., Frei B., 1993. J. Lipid Res., 34, 1745-1753.
Mahmoud K.Z., Edens F.W., 2003. Comp. Biochem. Physiol. Part B 136, 921-934.
Petracci M., Soglia F., Madruga M., Carvalho L., Ida E., Estevez M., 2019. Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety, 18 (2), 565-583.
Schooneere N., Istasse L., 2006. Ann. Méd. Vét., 150, 203-211.
Soleimani A.F., Zulkifli I., Omar A.R., Raha A.R., 2011. Poult. Sci., 90, 1435-1440.
Surai P.F., Ionov I.A., Kuchmistova E.F., Noble R.C., Speake B.K., 1998. J. Sci. Food Agricult., 76, 593-598.
Surai P.F., Kochish I.I., Fisinin V.I., Kidd M.T., 2019. Antioxidants, 8, 235, 36 p.
Yang G.L., Zhang K.Y., Ding X.M., Zheng P., Luo Y.H., Bai S.P., Wang J.P., Xuan Y., Su Z.W., Zeng Q.F., 2016. Internat. J. Biometeorol., 60, 1193-1203.

Tableau 1. Synthèse des effets de l'âge et de la souche sur les marqueurs du statut antioxydant du poulet

	Effet souche	**Effet âge**
TBARS		
Plasma	Non	J1 ↗ J14 →J28 ↘ J42
Foie	Non	J7 > autres âges
Muscles de patte	Oui, ST < LR	J1 → J7 ↘ J28 → J42
Muscle *P. major*	Oui, ST < LR	J1 ↗ J7 → J28 ↘ J42
Activité GPx		
Plasma	Non	J7 ↗ J14 → J35 ↘ J42
Foie	Non	J1 ↘ J7 ↗ J28 → J42
Muscles de patte	Non	J1 ↘ J7 → J42

Muscle *P. major*	Non	J1 ↘ J14 → J42
Activité GR		
Plasma	Oui, ST > LR	J1 ↘ J7 → J35 ↗ J42
Foie	Non	J1 ↘ J14 → J35 ↗ J42
Muscles de patte	Non	J1 ↘ J7 → J42
Muscle *P. major*	Oui, ST > LR	J1 ↘ J14 → J42
Activité SOD		
Plasma	Oui, ST < LR	J1 → J14 ↗ J35 → J42
Foie	Oui, ST < LR	J1 ↗ J7 → J42
Muscles de patte	Oui, ST < LR	J1 ↗ J7 → J42
Muscle *P. major*	Oui, ST < LR	J1 ↗ J7 → J42
TAS		
Plasma	Oui, variable selon l'âge	J1 → J42
Foie	Non	J1 → J14 ↗ J21 → J42
Muscles de patte	Oui, ST > LR	J1 ↗ J7 → J42
Muscle *P. major*	Non	J1 ↗ J42 variable selon la souche
Activité catalase		
Foie	Oui, ST > LR	J1 ↘ J7 → J42
Muscles de patte	Non	J1 ↘ 28 → J42
Muscle *P. major*	Non	J1 ↘ J7 → J42
Vitamine E		
Plasma	Oui, ST > LR	J1 ↘ J7 → J42

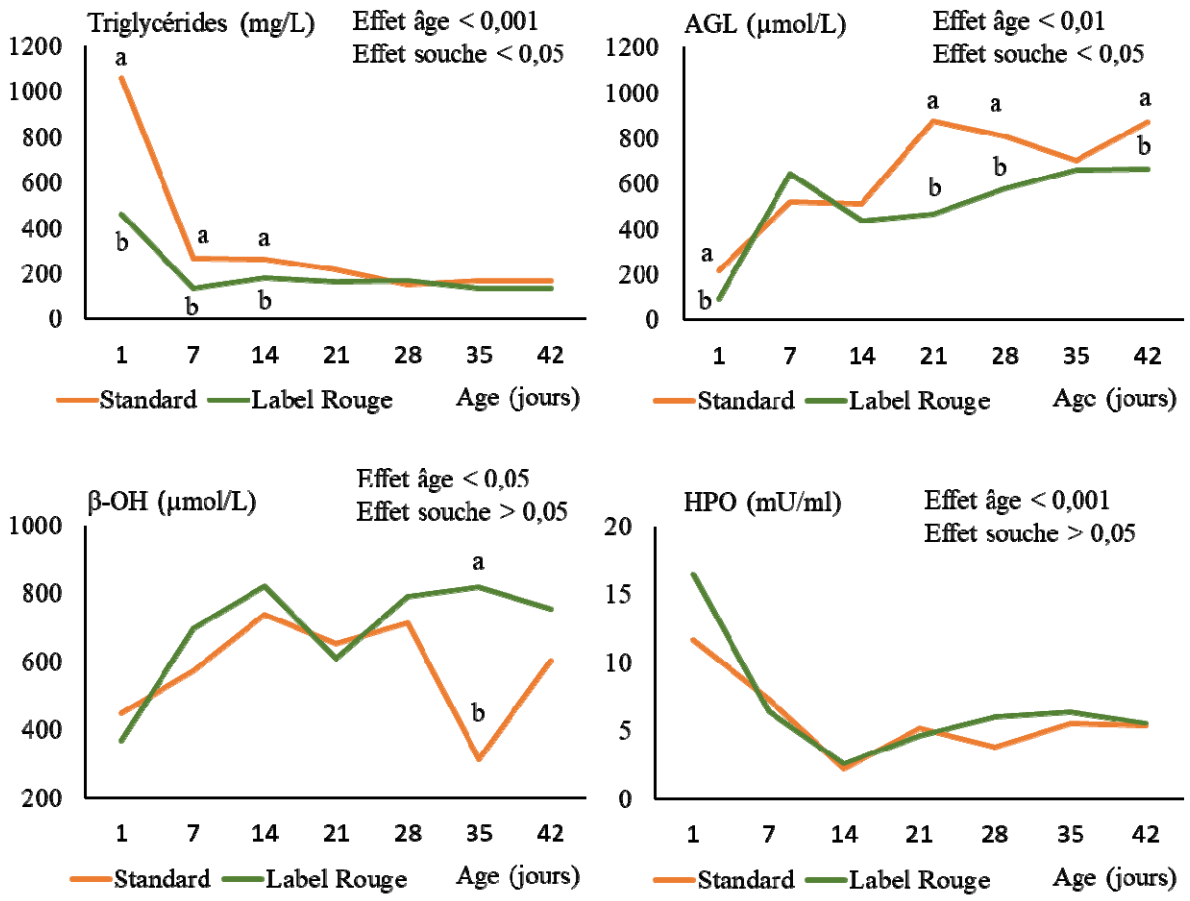


Figure 1. Effet de l'âge et de la souche sur l'évolution de métabolites dans le plasma de poulet

β -OH = β-Hydroxybutyrate ; AGL = Acides Gras Libres ; HPO = Hydroxyperoxydes
a, b : effet significatif de la souche à un âge de donné avec P < 0,05

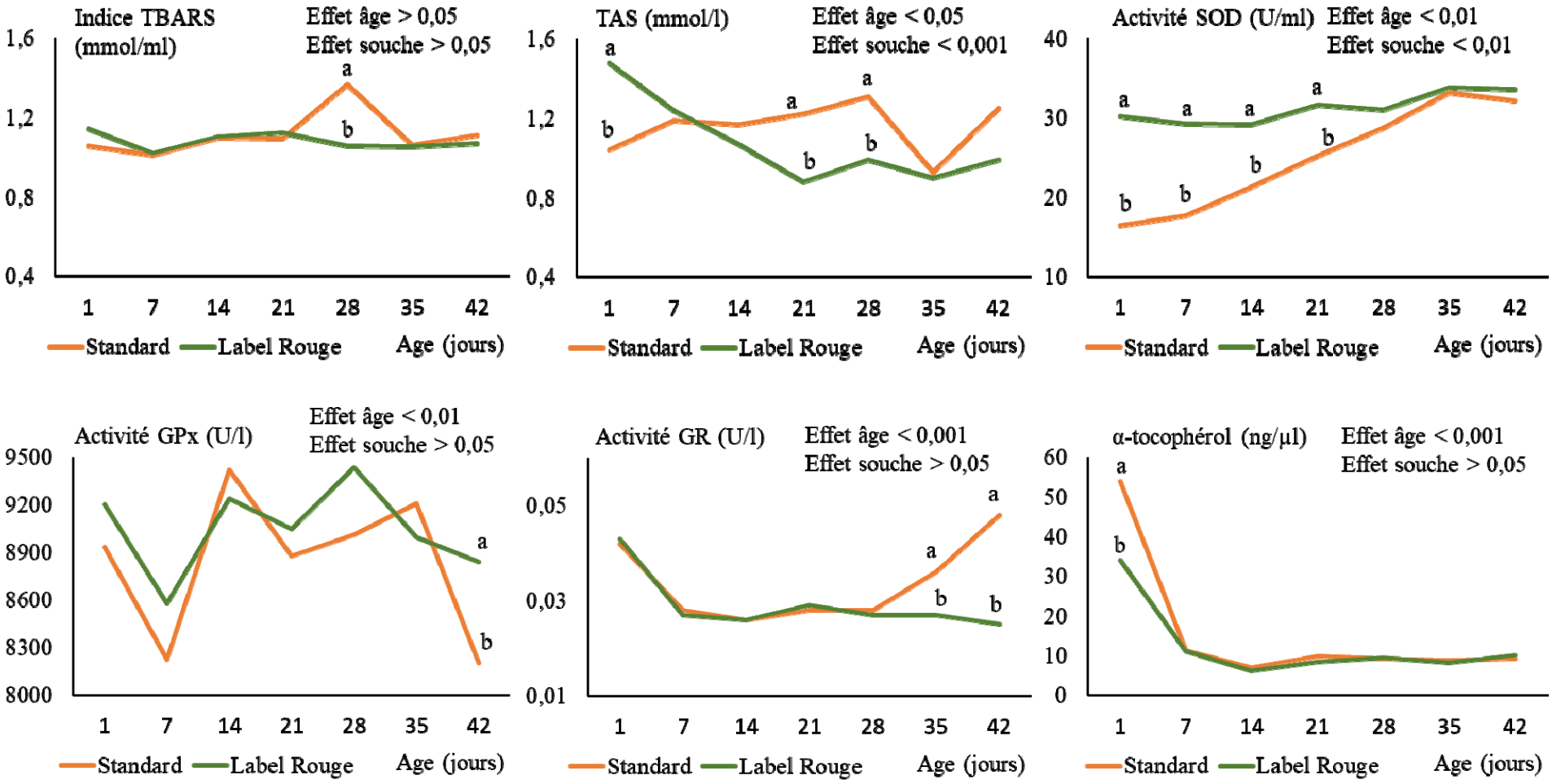


Figure 2. Effet de l'âge et de la souche sur l'évolution de marqueurs du statut antioxydant dans le plasma de poulet

TBARS = Thio-Barbituric Acid ; TAS = Total Antioxidant Status ; SOD = Super Oxide Dismutase ; GPx = Glutathion Peroxydase ; GR = Glutathion Reductase
a, b : effet significatif de la souche à un âge donné avec P < 0,05



Impact de l'âge et de la souche sur le statut antioxydant du poulet de chair

Coudert E., Baéza E., Jimenez J., Cailleau-Audouin E., Bordeau T., Chartrin P., Berri C.

INRAE, Université de Tours, UMR BOA, Nouzilly, France

elisabeth.baeza-campone@inrae.fr

1. INTRODUCTION

Les volailles sélectionnées pour une vitesse de croissance rapide et un rendement en viande élevé sont plus sensibles au stress oxydatif. Les souches utilisées en production Label Rouge ont des vitesses de croissance plus lentes et sont réputées plus robustes.

Chez les volailles, le développement des défenses anti-oxydantes (enzymes, glutathion, vitamines …) au cours des premières semaines de croissance post-éclosion a fait l'objet de peu d'études.

2. OBJECTIF

Mesurer les capacités de défense anti-oxydante des poulets au cours des premières semaines de développement pour deux souches d'animaux utilisées couramment en production avicole et présentant des vitesses de croissance différentes.

3. MATERIEL ET METHODES

ANIMAUX : élevage de 120 poulets mâles standards Ross 308 (ST) et 120 poulets mâles Label Rouge JA 657 à l'unité expérimentale PEAT (INRAE, Nouzilly).

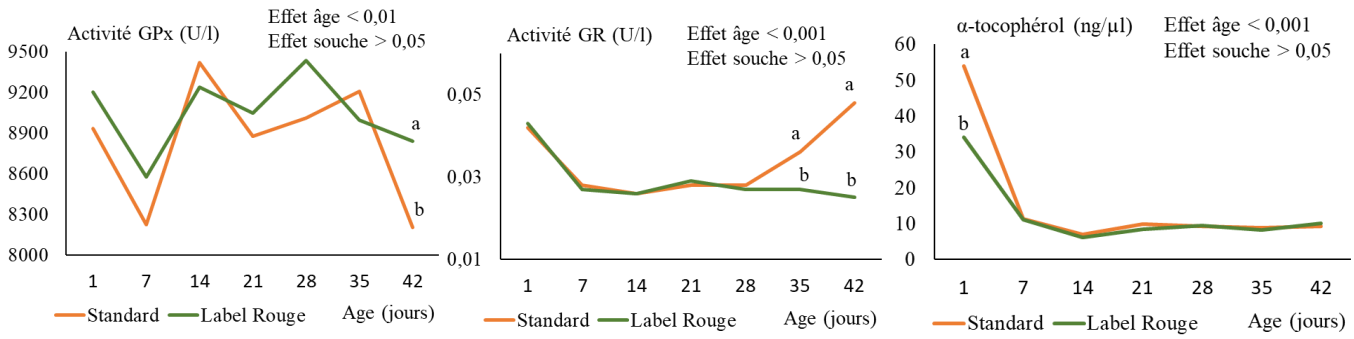
Sacrifice à J1 après 8 h de jeûne de 20 poulets par souche pour prélever du sang, des muscles (filet et cuisse) et le foie. Répétition de ces prélèvements sur 10 poulets par souche aux âges de 7, 14, 21, 28, 35 et 42 jours.

MESURES SUR LES PLASMAS : activités SOD (SuperOxide Dismutase), GPx (Glutathion peroxidase), GR (Glutathion reductase), les hydroperoxydes, l'activité peroxydase et le TAS (Total Antioxidant Status), indice TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) pour estimer la peroxydation des lipides, métabolites (glucose, β-hydroxybutyrate, acides gras libres, acide urique, triglycérides) et vitamine E.

MESURES SUR LES TISSUS : activités SOD, GPx, GR, catalase, TAS, TBARS.

4. RESULTATS

Effet de l'âge et de la souche sur l'évolution de marqueurs du statut antioxydant dans le plasma de poulet (n = 10)



5. CONCLUSIONS

La capacité anti-oxydante des animaux est élevée au moment de l'éclosion en lien avec le métabolisme énergétique plutôt oxydatif des animaux. Cette capacité diminue rapidement au cours de la première semaine en particulier dans le foie et le plasma. Elle augmente ensuite dans les muscles en lien avec leur développement post éclosion.

L'effet de la souche est variable selon le paramètre étudié et l'âge des animaux. Néanmoins, l'âge a plus d'impact que la souche sur la capacité anti-oxydante des poulets.

Etude co-financée par FranceAgriMer dans le cadre du projet d'avenir SAGA

LUMIERE NATURELLE EN ELEVAGE DE POULETS DE CHAIR

ETAT DES LIEUX DES AMENAGEMENTS, PRATIQUES DE GESTION ET IMPACTS SUR LES ANIMAUX ET LES ELEVEURS

Créach Pauline[1], Warin Laura[1], Gervais Jerémy[1], Jean-Marie Fontanet[1]

[1]ITAVI (Institut Technique des filières AVIcole, cunicole et piscicole) – 7, rue du Faubourg Poissonnière – 75009 Paris

creach@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Pour répondre aux attentes sociétales autour du bien-être animal, plusieurs cahiers des charges prévoient la présence de fenêtres pour apporter de la lumière naturelle aux poulets. Les éleveurs ont besoin de recommandations techniques pour les aider à transformer un bâtiment existant, ou à faire les bons choix lors d'une construction neuve. Ils se questionnent aussi sur l'impact potentiel de la lumière naturelle sur les poulets de chair (comportement, santé). Les aménagements permettant l'apport en lumière naturelle pour les bâtiments poulets de chair sans accès à l'extérieur ont été répertoriés dans cette étude. L'ITAVI a réalisé des enquêtes qualitatives auprès de 25 éleveurs ayant au moins un bâtiment avec fenêtres. Par ailleurs, des évaluations du bien-être des poulets ont été réalisées avec la méthode EBENE®, la semaine précédant l'abattage dans les bâtiments des éleveurs enquêtés (16 lots évalués) et comparées à 9 évaluations sans lumière naturelle. Les enquêtes ont mis en évidence une diversité des aménagements (surface de vitrage, positionnement des fenêtres et vitrage utilisé). Les volets ne sont pas systématiquement présents et sont pour la moitié des éleveurs enquêtés utilisés durant les périodes nocturnes. Leur fermeture peut être motorisée et automatisée. Dans certains cas, les volets sont fermés à titre préventif pour anticiper les réactions de peur des poulets (en cas de circulation de véhicules à la tombée de la nuit par exemple) ou pour mieux maîtriser l'ambiance du bâtiment en cas de fortes chaleurs. La présence de fenêtres permet unanimement une amélioration des conditions de travail de l'éleveur. Elle améliore également le bien-être des poulets qui expriment davantage de comportements d'explorations et d'interactions en comparaison aux résultats en bâtiment sans lumière naturelle. La lumière naturelle était perçue par les enquêtés comme ayant un impact négatif sur la répartition et la nervosité des poulets, qui semble être en lien avec l'entrée de rayonnements directs dans le bâtiment. Les apports en lumière étaient différents pour les éleveurs enquêtés, avec une majorité d'éleveur donnant accès à la lumière naturelle dès le démarrage. Ces enquêtes ont aussi permis d'émettre des préconisations sur les aménagements et équipements à mettre en œuvre pour maximiser l'apport en lumière naturelle et limiter l'apparition de problèmes divers.

ABSTRACT

Natural light in broiler barns: review of arrangements, managements practices and impacts on animals and farmers

In response to societal expectations regarding animal welfare, several specifications require the presence of windows to provide natural light for broilers. Farmers need technical recommendations to help them transform an existing building, or to make the right choices when building a new one. They are also concerned about the potential impact of natural light on broilers (behaviour, health). In this study, a list was drawn up of the facilities that allow natural light to be provided in broiler houses without outdoor access. ITAVI conducted qualitative surveys 25 farmers who have at least one building with windows. In addition, welfare assessments of the chickens were carried out using the EBENE® method the week before slaughter in the barns the surveyed farmers (16 flocks assessed) and compared to 9 evaluations in barns without natural light. The surveys revealed a diversity of layouts (glazing surfaces, positioning of windows and glazing used). Shutters are not systematically present and half of the farmers surveyed use them during the night. They can be motorised and automated. In some cases, the shutters are closed as a preventive measure to anticipate the broilers' fearful reactions (in the event of vehicle traffic at nightfall, for example) or to better control the atmosphere in the building in the event of hot weather. The presence of windows unanimously improves the working conditions of the farmer. It also improves the welfare of broilers, who express more exploratory and interaction behaviours compared to evaluations carried out in barns without natural light. Natural light was perceived by the respondents to have a negative impact on the distribution and nervousness of the chickens, which seems to be related to the entry of direct radiation into the barn. Light inputs were different for the farmers surveyed, with the majority of farmers giving access to natural light from the start. Those surveys also enabled recommendations to be made on the arrangements and equipment to be implemented to maximise the supply of natural light and limit the appearance of various problems.

INTRODUCTION

L'apport en lumière naturelle fait partie intégrante des cahiers des charges pour la production de poulets de chair, surtout pour les systèmes sans accès à un parcours, qui sont particulièrement controversés. Certaines chartes imposent une surface en vitrage, proportionnelle à celle du bâtiment d'élevage. Ainsi, les éleveurs ont dû adapter leurs bâtiments pour intégrer la surface en fenêtre demandée. Aucune étude à ce jour ne fait état des différents types d'aménagements réalisés pour apporter la lumière naturelle aux poulets.

Le développement des fenêtres soulève la question de l'impact de la lumière naturelle sur les poulets de chair (comportement, santé). Des volets peuvent être utilisés pour moduler l'apport en lumière naturelle mais les situations nécessitant leurs fermetures ne sont pas décrites dans la littérature. La lumière, artificielle ou naturelle, est indispensable pour répondre à une partie des besoins physiologiques et comportementaux des poulets (Olanrewaju H.A. et al, 2006). La lumière naturelle voit son spectre lumineux (ensemble de différentes longueurs d'ondes qui compose la lumière, formant une palette allant de l'ultraviolet à l'infrarouge) évoluer au cours des saisons. L'été, les longueurs d'ondes les plus présentes sont le rouge et un peu de bleu et de vert. Le poulet ne perçoit pas la lumière comme les humains. En effet, le spectre visible des hommes est plus restreint que celui des volailles. Le poulet est ainsi plus sensible à certaines longueurs d'ondes que l'homme, comme le bleu et le rouge (Lewis et al, 2006). La longueur d'onde rouge semble stimuler les comportements agressifs et la longueur d'onde verte semble stimuler la croissance des volailles (Sultana et al., 2013). Les études publiées sur l'impact de la lumière naturelle ne permettent pas de conclure sur l'impact unique de la lumière naturelle sur le comportement des volailles, puisqu'elle est toujours associée à l'utilisation d'enrichissement de milieu comme dans Bailie et al. (2013) et De Jong et Gunnink (2019). Une étude récente montre que les poulets semblent préférer un environnement avec de la lumière naturelle en comparaison à un environnement avec de la lumière artificielle uniquement (Sans, E.C.d.O et al, 2021). Cependant, L'étude de Morcel et Le Ménec (1995) montre que les poids, les indices de consommation, la mortalité et l'état de litière sont identiques pour les poulets de souche ROSS 308 conduits en lumière artificielle ou en lumière naturelle. Dans cette même étude, les abcès, hématomes, ampoules de bréchets et griffures étaient moins fréquents pour les animaux élevés en lumière naturelle par rapport à ceux élevés en lumière artificielle.

L'objectif du travail présenté vise à mieux appréhender la diversité des aménagements effectués, lors de constructions neuves ou de rénovation, pour apporter de la lumière naturelle aux poulets de chair. Le second objectif est d'identifier des différences dans la gestion de l'apport en lumière avec ces aménagements. Enfin, l'impact de la lumière naturelle sur les animaux et le travail de l'éleveur a été exploré.

1. MATERIELS ET METHODE

1.1. Entretiens semi-directifs réalisés auprès d'éleveurs

Afin de répondre aux objectifs listés, des entretiens semi-directifs ont été réalisés auprès de 25 éleveurs de poulets de chair standard claustrés tout venant (élevage non sexés jusque 35 jours). Les éleveurs ont été recrutés selon les critères suivant : localisation Région Auvergne-Rhône-Alpes, différentes organisations de productions représentées afin que les cahiers des charges suivis soient différents. Les contacts ont été fournis par les organisations de production présentes dans la région. L'ensemble des bâtiments des éleveurs concernés par les entretiens possédaient des fenêtres mises en place à la construction du bâtiment ou lors d'une rénovation ultérieure à sa construction. L'étude se base sur la réalisation d'entretiens semi-directifs. Il permet d'avoir des thématiques définies tout en étant libre d'aborder ou d'approfondir celles-ci dans n'importe quel ordre. Un guide d'entretien a été rédigé avec des questions ouvertes et des relances qui ont pour but de favoriser les réponses spontanées de l'interlocuteur. L'entretien est individuel pour que les réponses de l'éleveur ne soient pas influencées par la présence d'une tierce personne. Une grille d'entretien a été réalisée pour la saisie des réponses. Cette grille définit chaque individu enquêté par plusieurs variables, quantitatives ou qualitatives. Les entretiens ont été enregistrés avec un dictaphone et retranscrits sous forme de fiche résumée reprenant, de manière concise, les informations obtenues au cours de l'entretien. Les guides d'entretien ont été organisés en 3 parties :

- description de l'entreprise et de l'activité professionnelle de l'éleveur enquêté.
- description et discussion sur les aménagements « lumière naturelle » mis en place. L'enquêteur a également recueilli l'avis des éleveurs sur les aménagements utilisés.
- discussion sur la gestion et l'impact de la lumière naturelle sur les animaux et le travail de l'éleveur.

1.2. Evaluation du bien-être des poulets

Des évaluations EBENE® du bien-être ont été réalisées la semaine précédant le départ des animaux à l'abattoir dans les bâtiments des éleveurs enquêtés (Bignon et al, 2017). Cette évaluation consiste à observer les animaux sans manipulation dans le bâtiment d'élevage et à collecter des indicateurs de bien-être. Chaque indicateur EBENE® est associé à un score de 0 (très mauvais) à 5 (très bon). Ces scores sont agrégés au sein de 12 critères du bien-être, liés aux 4 grands principes. Un questionnaire est également réalisé auprès de l'éleveur pour recueillir ses pratiques.

Neuf évaluations EBENE®, réalisées dans de précédentes études par l'ITAVI en poulets de chair claustrés et sur les même souche de poulets également, dans des bâtiments sans lumière naturelle ('Ref Sombre' dans la suite) ont été utilisées pour comparaison aux évaluations réalisées dans cette étude ('LUMINAT' dans la suite). Les moyennes des scores par indicateurs EBENE® ont été calculés et comparés pour chacun des 2 échantillons. Seuls les résultats moyens par indicateurs EBENE® avec une différence supérieure ou égale à 1 point seront présentés et discutés dans cet article. En effet, cette différence est considérée comme suffisamment importante pour être visuellement perceptible par un observateur. Les indicateurs de moyen, pour la plupart issus du questionnaire auprès de l'éleveur, ne seront pas discutés. Ces derniers dépendent des équipements et des pratiques de l'éleveur qui ne sont pas dépendants de l'accès ou non à la lumière naturelle.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Description du panel d'éleveurs et de bâtiments enquêtés

Tous les éleveurs enquêtés possèdent sur leur exploitation un atelier autre que celui de poulets de chair (production végétale ou animale). Ils ne sont donc pas spécialisés en production avicole. Parmi les éleveurs enquêtés, 9 ont commencé l'activité avicole en 2010 ou avant, 5 entre 2011 et 2016 et 11 entre 2017 et 2020. L'expérience en aviculture est donc variable selon les enquêtés mais près de la moitié ont une expérience « récente » en aviculture. Le panel se compose de 18 éleveurs et 7 éleveuses. Les éleveurs enquêtés possèdent en moyenne 1,56 bâtiments et 2130m² de surface utile. En comparaison, la moyenne nationale est de 1,81 bâtiments par éleveur et 1942 m² de surface utile par éleveur (Hercule, 2020). 16 des 25 éleveurs enquêtés ont construit un bâtiment neuf avec accès à la lumière naturelle. Les 9 autres ont rénové leur bâtiment pour apporter de la lumière naturelle aux animaux. Une différence a pu être constatée entre les constructions ou rénovations de bâtiments réalisées avant (7 éleveurs) et après 2017 (18 éleveurs), en termes de surface de vitrage et de matériau utilisé. L'année 2017 correspond en effet à la parution du Better Chicken Commitment (www.betterchickencommitment.com) et de chartes propres à chaque organisation de production de poulets de chair qui exigent la mise en place de fenêtres sur les bâtiments d'élevage de poulets de chair.

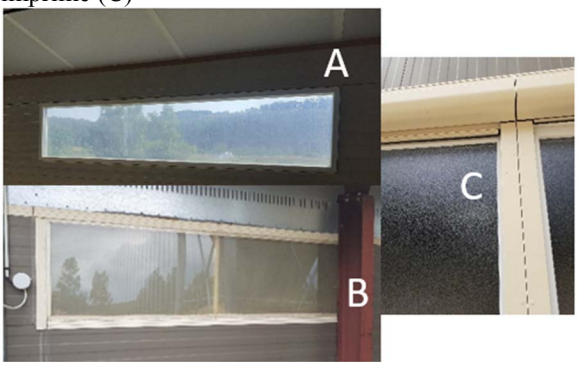
2.2. Des aménagements variés pour apporter la lumière naturelle aux animaux

Type de vitrage

Pour les rénovations et constructions réalisées avant 2017, la surface de fenêtres représente moins de 3% de la surface utile des bâtiments. Les fenêtres sont en polycarbonate alvéolaire (Figure 1.B). A l'inverse, après 2017, les fenêtres sont en double-vitrage avec encadrement PVC, transparent (n=14/18) ou imprimé (n=4/18) (Figure 1, respectivement A et C).

Même si le choix du vitrage (transparent ou non et double-vitrage ou non) est dépendant du budget de l'éleveur (coût moins important pour le polycarbonate alvéolaire) il est aussi fortement contraint par le cahier des charges auquel il doit répondre. Le double vitrage est cependant préféré pour sa qualité isolante (conductivité thermique inférieure au polycarbonate, 2.8 $W.K^{-1}.m^{-2}$ versus 3.2 $W.K^{-1}.m^{-2}$ pour le polycarbonate), sa résistance aux agressions chimiques et physiques du lavage et sa durabilité dans le temps.

Figure 1. Différents types de vitrage utilisés: transparent (A), polycarbonate alvéolaire (B) et imprimé (C)



Positionnement des fenêtres

L'ensemble des 25 enquêtés disposaient de fenêtres sur les longs pans, à moins d'1m de haut pour 9 bâtiments et au-delà d'un mètre pour les autres. 4 bâtiments disposaient de fenêtres uniquement d'un côté alors que les autres disposaient de fenêtres des 2 côtés du bâtiment. Un seul bâtiment disposait de fenêtres sur les pignons, en plus des fenêtres sur les 2 longs pans (Figure 2.C).

Figure 2. Différents positionnements des fenêtres rencontrés : basse (A), au-delà de la hauteur d'homme (B), en pignon (C), à hauteur d'homme (D).



Cette mise en place en pignon a été réalisée pour permettre d'insérer la surface de vitrage exigée par les cahiers des charges. 6 éleveurs expliquent que les fenêtres ne doivent pas permettre de voir l'intérieur du bâtiment depuis l'extérieur. C'est pourquoi 2 éleveurs ont fait le choix de placer les fenêtres au-delà de la hauteur d'homme afin qu'il ne soit pas possible de regarder au travers de celles-ci (Figure

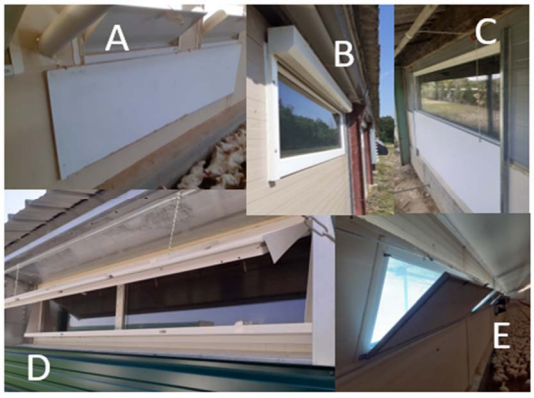
2.B). Cette dernière position permet d'éviter l'entrée de rayonnements directs dans le bâtiment. Ces derniers peuvent créer des zones sur-éclairées, perçues par les enquêtés comme ayant un impact négatif sur la répartition et la nervosité des poulets. Des dysfonctionnements matériels peuvent également être générés par les rayons lumineux entrant d'après 2 éleveurs enquêtés (chauffe de l'eau de boisson et impact sur les mesures de température d'ambiance). Le placement des fenêtres en bas de long-pan a été évoqué par 2 éleveurs comme à risque par rapport à la casse des vitrages potentiellement lors du paillage (Figure 2, A).

Les contraintes d'adaptation à l'existant lors de rénovation font que les éleveurs n'ont parfois pas le choix du positionnement de la fenêtre sur le long-pan. En fonction de l'espace disponible, les fenêtres peuvent parfois être de dimensions différentes (exemple Figure 2.D). Le positionnement des fenêtres est à réfléchir prioritairement en fonction de l'emplacement des trappes d'entrée d'air du système de ventilation. La trappe ne doit pas être à plus de 1,8m du sol pour assurer un bon circuit d'air dans le bâtiment permettant de ventiler les animaux.

Les différents systèmes d'occultation rencontrés

Avant 2017, la possibilité d'occultation des fenêtres n'est pas systématique avec 3 éleveurs sur 7 qui ne possèdent pas d'occultant. Chez ces derniers, les occultants mis en place sont des plaques en bois, placées dans la salle d'élevage (Figure 3.A), qui s'ouvrent et se ferment manuellement, fenêtre par fenêtre.

Figure 3. Différents systèmes d'occultation des fenêtres rencontrés : plaque occultante (A), volet roulant (B), guillotine (C), sur charnière (D) et intégré à la trappe d'air (E).



Après 2017, les occultants sont systématiquement installés, avec 2 bâtiments sur 18 équipés d'un dispositif manuel d'ouverture des volets, fenêtre par fenêtre. Les systèmes d'occultation rencontrés dans le cadre de l'enquête réalisée sont : le volet roulant extérieur, qui s'enroule sur un seul tube à enroulement a été observé chez 4 bâtiments sur 18 (Figure 3.B), la guillotine qui est constituée d'un tablier extérieur entre deux glissières, raccordé à un tube à enroulement avec des cordelettes ou sangles a été observé chez 9 éleveurs sur 18 (Figure 3.C), le volet sur charnière extérieur relevé par une cordelette sur tube à enroulement a été observé chez un éleveur (Figure 3.D) et l'occultant intégré à la trappe d'air à l'intérieur sur charnière avec relevage centralisé a été observé chez 2 enquêtés (Figure 3.E).

Le panel d'éleveurs enquêtés fait état de problèmes de fonctionnement des occultants (fermeture partielle uniquement, blocage ou casse des poulies ou de l'occultant lié au gel).

Occultation manuelle ou motorisée

Les systèmes d'occultation motorisés sont le plus souvent automatisés et permettent aux éleveurs de gagner du temps. L'automatisation à partir du boîtier de régulation est majoritairement basée sur une programmation des heures d'ouverture et de fermeture, ajustable selon la période de l'année et le programme lumineux utilisé. Le boîtier de régulation peut également être relié à un capteur crépusculaire, à l'extérieur du bâtiment. Sa cellule photosensible déclenche l'ouverture totale des occultants lorsque la luminosité extérieure est suffisante le matin. La fermeture complète est déclenchée lorsque la luminosité est insuffisante le soir. La gestion de l'ouverture et de la fermeture des occultants selon l'heure de lever et de coucher du soleil est également possible avec une horloge astronomique, qui se remet à l'heure automatiquement (dans le cas de panne de courant ou de changement d'heure).

2.3. La gestion de l'apport en lumière par les éleveurs et le coût des aménagements.

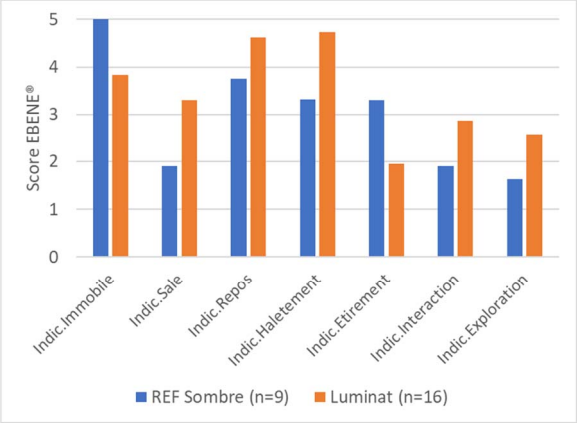
La majorité des éleveurs apportent de la lumière naturelle aux animaux dès le démarrage. D'autres choisissent une ouverture progressive dès le démarrage ou après 3 jours. L'occultation nocturne des fenêtres est très liée à l'équipement, les éleveurs disposant d'une motorisation (automatique ou non) des occultants le font volontiers. L'enquête révèle des situations particulières nécessitant parfois la fermeture des occultants, par exemple pour prévenir des événements exceptionnels à l'extérieur du bâtiment (circulation de véhicules ou de personnes, fortes chaleurs) ou en fonction du comportement des animaux. Le coût de la mise en place des fenêtres, avec des surfaces en vitrage équivalentes à 3 % de la surface utile est en moyenne de 17€/m². Ce montant prend en compte les fenêtres, le systèmes d'occultation et la pose de ces équipements (motorisation comprise). Les prix varient de 7 à 31€/m² pour les constructions neuves et de 12 à 25€ du m² pour les rénovations. Au global, la charge financière occasionnée par les fenêtres est estimée à 7.2 % du coût complet d'un bâtiment neuf.

2.4. Evaluations EBENE® du bien-être réalisées et confort de travail des éleveurs

Les 25 éleveurs interrogés ont fait unanimement état de meilleures conditions de travail dans les bâtiments avec fenêtres. Les éleveurs qualifient le travail de 'plus agréable' dans ces bâtiments, en raison d'une luminosité supérieure et plus 'appréciable'. Les éleveurs apprécient également la vision sur

l'extérieur offerte par les fenêtres dans le cas d'un vitrage transparent. Les indicateurs EBENE® présentant des différences supérieures ou égales à 1 point de score EBENE® entre l'échantillon 'LUMINAT' (bâtiments avec fenêtres) et 'REF Sombre' (bâtiments sans fenêtre), sont présentés dans la Figure 4. Les animaux élevés en bâtiment avec fenêtres exprimaient davantage de comportements d'exploration et d'interaction, par rapport aux animaux élevés en bâtiments sans lumière naturelle. Il y avait davantage d'animaux sales et qui halètent en bâtiment sombre par rapport à ceux en bâtiments avec fenêtres. Ces résultats concernant les animaux sales sont à mettre en lien avec la qualité de la litière, qui était moins bonne dans les bâtiments sombres (résultat non présenté car non significatif, avec +0,5 point de score EBENE® pour les bâtiments avec fenêtres par rapport aux bâtiment sans fenêtre).

Figure 4. Résultats des évaluations du bien-être EBENE® par échantillon



Ces observations reflètent un problème de gestion de l'ambiance, particulièrement de l'humidité et de la température en bâtiment 'REF sombres' par rapport aux bâtiments avec fenêtres dans le cas des résultats obtenus, même si ceci n'a pas pu être vérifié dans le cadre de cette étude. A noter que près de la moitié des éleveurs enquêtés présentaient une expérience 'récente' en aviculture (1 à 4 ans) et que le choix des éleveurs a été laissé aux organisations de production. Dans la bibliographie, Bailie et al. (2013) constatent également une amélioration de l'état de la litière en bâtiment clair. Dans les bâtiments avec lumière, les poulets grattent et picorent davantage la litière, ce qui participe à l'entretien de celle-ci. Un nombre optimum d'animaux au repos est observé en bâtiment avec fenêtres, par rapport aux animaux élevés en bâtiments 'REF sombres'. Cependant, moins de comportements d'étirement ont été observés chez les animaux élevés en bâtiment avec fenêtres. Or, l'étirement est un comportement de confort souvent exprimé après une phase de repos. Davantage d'animaux immobiles ont également été observés dans les bâtiments avec lumière naturelle. Ceci peut s'expliquer par des pratiques de tri différentes selon les éleveurs ou des contextes sanitaires différents selon les élevages.

CONCLUSION

Les enquêtes réalisées auprès d'éleveurs de poulets de chair claustrés, avec apport en lumière naturelle font état d'une large possibilité d'aménagements, en construction neuve et en rénovation, pour apporter la lumière naturelle aux animaux (type de vitrage, positionnement et système d'occultation). Les éleveurs sont unanimes sur l'amélioration du confort de travail dans ces bâtiments. La lumière naturelle améliore également l'expression du comportement des animaux (exploration et interaction) et réduit le nombre d'animaux sales (en lien avec la qualité de la litière). Ainsi, cette étude montre un bénéfice 'gagnant-gagnant', pour l'éleveur et ses animaux. Cette étude permettra d'émettre des préconisations sur les aménagements et équipements à mettre en œuvre pour maximiser l'apport en lumière naturelle et limiter l'apparition de problèmes divers. Une étude devra être menée sur le long terme dans ces bâtiments pour confirmer les impacts positifs observés sur le bien-être des poulets et la qualité de la litière.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet LUMINAT, financé par les fonds PEPIT de la région Auvergne-Rhônes-Alpes. Les auteurs remercient les éleveurs ayant participé aux enquêtes et les organisations de production, particulièrement Valsoleil.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bailie C. L., Ball M.E.E. and O'Connell N.E., Influence of the provision of natural light and straw bales on activity levels and leg health in commercial broiler chickens ; 2013. Animal, vol.7n n°4, p.618-626.

Bignon L., Mika A., Mindus C., Litt J., Souchet C., Bonnaud V., Picchiottino C., Warin L., Bouvarel I., 2017. Une méthode pratique et partagée d'évaluation du bien-être en filières avicole et cunicole : EBENE. 12e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 05 et 06 avril 2017

De Jong I. C. and Gunnink H., Effects of a commercial broiler enrichment programme with or without natural light on behaviour and other welfare indicators ; 2019. Anim. Int. J. Anim. Biosci., vol. 13, n°2, p. 384-391.

Hercule J., 2020. « Évolutions du parc de bâtiments de production de volailles de chair Résultats de l'année 2018 », TeMA, n) 53.

Lewis P. et Morris T., 2006. Poultry lighting : the theory and practice. Andover: Northcot

Mocel G. and Le Ménec M., comparaison entre éclairement artificiel et éclairement naturel en production de poulets de chair ; 1995. Première Journées de la Recherche Avicole.

Olanrewaju H.A., Thaxton J.P., Dozier W.A., Purswell J., µRoush W.B et Branton S.L., 2006. A review of lighting programs for broiler production. Int. J. Poultry science, vol5, n°4, p301-308.

Sans, E.C.d.O., Tuyttens,F.A.M., Taconeli, C.A., Pedrazzani,A.S.; Vale, M.M., Molento, C.F.M. ; 2021. From the Point of View of the Chickens: What Difference Does a Window Make? Animals, 11, 3397.

Sultana S., Hassan Md.R, Choe H.S. et Ryu K.S, 2013. The effect of monochromatic and mixed LED light colour on the behaviour and fear responses of broiler chicken. Avian biology Res. Vol 6.n°3, p207-21

LITIERES ALTERNATIVES A LA PAILLE BROYEE : EFFETS SUR LE BIEN-ETRE ET LES PERFORMANCES DE POULETS STANDARD

Ottmann Léa[1], Warin Laura[1], Dinh Anthony[1]
[1]ITAVI – 7, rue du Faubourg Poissonnières - 75009 Paris

ottmann@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ
Les pododermatites posent des problèmes de santé et de bien-être en élevage de poulets de chair, avec de possibles conséquences économiques (pénalités d'abattoir). Une litière restant sèche et friable est nécessaire pour éviter la survenue de ces lésions mais la paille broyée, matériau le plus utilisé, ne permet pas d'avoir systématiquement un taux de pododermatites satisfaisant. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer l'intérêt d'autres matériaux vis-à-vis des pododermatites et des performances technico-économiques des élevages. Les essais ont été menés dans 8 élevages commerciaux de poulets de chair (Ross 308), dans lesquels ont été comparés 2 types de litière (miscanthus, bouchon de paille, balle de riz *vs.* paille broyée ainsi que balle de riz *vs.* bouchon de paille). A J15, J21, J35, les pododermatites ont été notées sur une échelle de 1 à 5. Le protocole EBENE® a permis d'évaluer le bien-être en fin d'élevage. Toutes les litières alternatives ont conduit à une amélioration du score de pododermatites par rapport à la paille. La balle de riz semble la plus performante (note moyenne de pododermatite inférieure de 25% par rapport à la paille) devant le bouchon de paille et le miscanthus (une baisse de 19,3% et 14,5% de la note respectivement). Les mesures EBENE® montrent une forte amélioration du critère « adaptation aux exigences comportementales de l'espèce » pour la balle de riz. Dans le cadre de ce travail, les litières alternatives testées ont amélioré les conditions d'élevage et les mesures du bien-être mais sans améliorer significativement les performances zootechniques. L'utilisation de ces litières se heurte à deux problématiques majeures, leur disponibilité et leur coût. Elles pourraient être néanmoins intéressantes dans les élevages ou la problématique de pododermatites est récurrente ou dans les périodes ou la gestion de la ventilation et du chauffage n'est pas toujours évidente.

ABSTRACT
Alternative beddings: effects on animal welfare and performances in broiler chicken
Foot pad dermatitis, also known as pododermatitis, is an issue in broiler chicken breeding. It affects their health and welfare, but can also lead to abattoir penalties. Therefore, having a dry and friable bedding is important to prevent those lesions. Chopped straw is the most used bedding, but it does not always guarantee a low pododermatitis rate. So, the aim of this study is to assess new bedding materials that can reduce pododermatitis without having an impact on the technical and economical performances of the farm. The trials were done in 8 conventional farms breeding Ross 308. In each farms, 2 types of bedding were tested (miscanthus, pelleted straw and rice husk *vs.* chopped straw and pelleted straw *vs.* rice husk). Pododermatitis were assessed at D15, D21 and D35 on a scale from 1 to 5. The welfare was measured with the EBENE® method. Rice husk seems to be the most effective bedding (mean score of pododermatitis reduced by 25% compared to chopped straw) followed by pelleted straw and miscanthus (with a decrease of 19,3% and 14,5% of the mean score respectively). EBENE® test showed a strong improvement in the "adaptation to the specie behavioural requirements" for rice husk. This study showed that the tested alternative beddings improved breeding conditions without affecting the zootechnical performances. But there are two downsides to those beddings: their price and the lack of stocks. They could be, however, quite useful in farms with a chronic pododermatitis issue, or during some phases when the ventilation and heating managment is challenging.

INTRODUCTION

Les pododermatites sont des infections des coussinets plantaires des volailles. Etant donné qu'elles atteignent l'intégrité physique de l'animal, les pododermatites sont un indicateur de bien-être, d'autant plus que leur apparition est souvent liée à une litière humide, favorisant la présence d'ammoniac qui conduit aux brûlures des coussinets. Or une litière dégradée est moins adaptée à l'expression des comportements naturels, ce qui altère également le bien-être des volailles. De plus, la gestion des pododermatites est aujourd'hui un enjeu économique pour l'éleveur puisque des systèmes de bonus/malus sur la rémunération du lot ont été mis en place par les abattoirs en fonction des pododermatites (Puybasset, 2019).

Il existe divers leviers d'action pour limiter l'apparition des pododermatites, tel que la gestion de l'ambiance (ventilation, chauffage), afin d'évacuer l'humidité produite par les animaux et ainsi conserver une litière la plus sèche et friable possible. Le type de litière, notamment sa capacité à absorber l'humidité, est également un critère d'intérêt (Buteau *et al.*, 2019). En élevage, la paille broyée est le matériau le plus souvent utilisé du fait de son faible coût et de sa disponibilité (Dennery *et al.*, 2012). Cependant, cette litière a une capacité de rétention d'eau limitée et se croûte rapidement, favorisant ainsi l'apparition des pododermatites. D'autres produits largement utilisés sur le terrain ont de meilleures caractéristiques : ce sont les dérivés du bois (copeau, sciure, etc.) mais leur utilisation dans la filière bois-chauffage, a fortement restreint leur disponibilité et augmenté leur prix (Dennery *et al.*,2012).
L'objectif de cette étude terrain est de mesurer l'intérêt de litières alternatives à la paille et aux sous-produits du bois dans la gestion des pododermatites.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Litières utilisées

Paille broyée
Dans cette étude, la paille broyée (PB) a été utilisée en tant que témoin car il s'agit de la litière la plus couramment utilisée par les éleveurs de volailles. Elle est souvent produite sur l'exploitation, facile à stocker, et peu chère (environ 65€/t soit 0,26€/m², données d'organisation de production). La paille broyée utilisée dans cette étude était produite directement sur les exploitations.

Miscanthus
La première litière alternative testée est le miscanthus (M). Il s'agit d'une graminée originaire d'Afrique dont l'utilisation se développe en élevage. Cette litière absorbante (jusqu'à 3 fois son poids) a des brins relativement longs (150 à 300mm selon le broyage). Elle peut être achetée ou cultivée sur l'exploitation. Le miscanthus est une plante pérenne : s'il est choisi de la cultiver, elle mobilise les parcelles pendant 15 ans, avec des rendements maxima obtenus après 5 ans de culture. A l'achat, cette litière coûte en moyenne 150€/t, soit un coût de 0,45-0,9€/m² en fonction du type de sol et de la quantité utilisée.

Bouchon de paille
La seconde litière alternative utilisée dans le cadre de cette étude est le bouchon de paille (BP). La paille broyée est compactée sous forme de granulés de 6 mm améliorant ainsi leur capacité d'absorption (jusqu'à 4 à 6 fois leur volume). Facile à stocker et à mettre en place, cette litière a un prix élevé (environ 230€/t, transformation et transport compris) mais la quantité utilisée étant plus faible, le coût de revient est proche des autres alternatives soit 0,46-0,92€/m² selon le type de sol.

Balle de riz
La dernière litière testée dans cette étude est la balle de riz (BR) qui n'est autre que l'enveloppe des grains de riz. Relativement absorbante (1,6 fois son poids), isolante et très friable, son utilisation se répand de plus en plus dans diverses productions animales. Son prix est assez proche de celui du miscanthus (prix moyen pour une fourniture régionale : 160€/t, transport compris), pour un coût de 0,48 - 0,88€/m² en fonction du sol.
Il s'agit toutefois d'une production de niche, la production de riz n'étant pas très développée en France (82 000 t en 2019 ; Passion Céréales) et localisée dans le Sud-Est. Sa disponibilité est donc réduite d'autant plus que la balle de riz ne se stocke pas.

1.2. Le dispositif expérimental

Les essais ont été réalisés dans 8 élevages commerciaux de poulets standards (souche Ross 308), mâles et femelles mélangés. Au total, 10 lots ont été suivis. Les durées d'élevages ont été comprises entre 33 et 40 jours. Dans la mesure du possible les tests ont été réalisés par comparaison deux à deux (paille *vs.* litière alternative) dans des élevages ayant deux bâtiments similaires (surface, ventilation, date de début de lot) afin de limiter les biais.

1.3. Les données mesurées

Pododermatites et lésions aux tarses.
Les pododermatites ont été notées pour chacun des lots à l'aide d'une échelle établie par l'ITAVI (Bignon *et al*., 2015). Les notes vont de 1 « pas de pododermatites » à 5 « pododermatites graves ». Les pododermatites ont été évaluées sur 100 individus par bâtiments à J15, J21 et J35. Une note

moyenne de ces scores a été donnée pour chacun des lots.

Bien-être animal
L'évaluation du bien-être global des animaux a été réalisée en suivant le protocole EBENE® (Mika *et al.*, 2019) qui repose sur les observations du comportement des volailles, d'indicateurs de santé et des informations sur l'élevage. Le croisement de ces données permet d'attribuer une note allant de 0 à 5 pour 12 critères de bien-être, donnant ainsi à l'éleveur une indication des forces et faiblesses de son système.
Sept critères peuvent être influencés par la litière :
-*Adaptation aux exigences comportementales de l'espèce* : expression des comportements naturels tels que le toilettage, les bains de poussière et l'exploration de l'environnement.
- *Comportement de groupe* : prise en compte les interactions positives et négatives (picage) entre les animaux.
- *Confort au repos :* dépend de la propreté des animaux et de l'état de la litière
- *Prévention de maladies :* calculé à partir du taux de mortalité et du nombre d'individu immobiles ou avec anomalie.
- *Prévention de blessures :* dépend du nombre d'animaux présentant des lésions ou des boiteries.
- *Capacité de mouvement* : prise en compte de la densité et de la fréquence des étirements et des battements d'ailes.
- *Confort d'ambiance* : dépend de la répartition des animaux ainsi que de la présence de comportement d'halètement ou non.

Performances
Les données de performances de gain moyen quotidien ont été relevées pour chaque lot.

Analyses de fumiers
Des analyses de fumier ont été réalisées en fin de lot en suivant le protocole AFAV (Ponchant, 2013). Afin d'effectuer l'analyse sur une partie représentative du bâtiment, plusieurs échantillons ont été récupérés sur l'ensemble du bâtiment autours de 3 zones : la zone "mangeoire", "abreuvoir" et "dortoir", avec répétition sur la longueur du bâtiment. A chaque zone d'échantillonnage est creusé un carré de 20 cm de côté dont le contenu est intégralement récupéré. Les divers échantillons sont ensuite mélangés avant de récupérer un seul échantillon de ce mélange homogène qui sera analysé.

1.4. Analyse des résultats

Les résultats des 10 lots ont été analysés à l'aide du logiciel R version 4.0. Les données ne répondant pas aux critères de validation de l'ANOVA du fait de la faible répétition des lots par type de litière (N<5), des tests non-paramétriques de Kruskal-Wallis et Mann-Whitney ont été réalisés au seuil de significativité de 5%.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Quel que soit le type de litière, les performances zootechniques, notamment le GMQ (gain moyen quotidien), ne sont pas significativement différentes entre les différents lots testés (Tableau 1). La variabilité des résultats terrain et le faible nombre de répétitions par type de litière ne permet pas une grande précision dans l'analyse. Les IC, et viabilités ne sont pas significativement différents entre les lots testés (données non présentées).

En revanche les notes moyennes de pododermatites sont intéressantes à comparer (Tableau 1). A J15, les pattes des volailles sont en meilleur état pour les litières alternatives avec des notes moyennes de 18% à 47% plus basses que pour la paille broyée. Le bouchon de paille a permis d'obtenir la note moyenne la plus faible (1,21 point). A J21, les notes remontent globalement mais restent significativement plus basses pour les litières alternatives que pour la paille (M : -0,72 point ; BP : -1,12 point ; BR -0,83 point). En fin de lot, la litière de paille broyée a encore une note significativement plus élevée que les autres litières. Il est à noter que si les litières alternatives ont des notes moyennes similaires (entre 3 et 3,42 points), la répartition des scores est différente (Figure 1). En effet, la note 4 a été obtenue majoritairement avec le miscanthus (48,3%), mais cette litière diminue fortement les notes 5 par rapport à la paille broyée (8,5% *vs.* 43,5%) et augmente les notes 1 (10,8% *vs.* 1,5%). Le bouchon de paille est la litière qui permet d'obtenir le plus de note 1 (22%), mais elle est également la litière alternative qui présente le plus de note 5 (16%), même si cette part reste bien plus faible qu'avec la paille broyée. La balle de riz est la litière qui a permis la plus grande réduction de pododermatites graves (notes 4 et 5) (BR : 27,8% ; BP : 49% ; M : 56,6% ; PB : 85,9%), mais elle présente peu de note 1 (5%).
Dans l'ensemble, les litières alternatives sont plus efficaces que la paille broyée. Toutefois les notes 3 et 4 restent les plus représentées. Ainsi, si les litières alternatives ne permettent pas une suppression totale des pododermatites, elles permettent un ralentissement dans l'apparition et la dégradation des pattes.

Les valeurs de fumiers (Tableau 2) ne sont pas significativement différentes entre les litières ($p>0,05$). Il est tout de même possible de noter que les valeurs les plus faibles se trouvent dans le fumier de bouchon de paille, notamment pour la matière sèche, sensiblement plus élevée pour les autres litières (PB : + 12,9% ; M : +16,9% ; 11,4%). Cette donnée confirme la force capacité

d'absorption du bouchon de paille et le fait que cette litière croûte plus facilement que les autres. Le miscanthus a la matière sèche la plus élevée (61,9%) et un taux de pododermatites graves plus faible que la paille broyée. Cela indique que le miscanthus a une bonne capacité de restitution de l'eau à l'environnement qui s'évacue ensuite avec la ventilation, ce qui est un indicateur de qualité de la litière. La balle de riz a un taux de matière sèche proche de la paille broyée, mais la petite taille des fibres incite les volailles à remuer la litière ce qui limite l'effet « croûte » qui est courant avec la paille broyée.

Les évaluations de bien-être animal selon le protocole EBENE® ont mis en avant plusieurs points (Figure 2). Tout d'abord, la balle de riz est la litière qui améliore le plus le critère « adaptation aux exigences comportementales de l'espèce » (3,1 points *vs.* 1,7 en paille broyée). En effet, en restant friable longtemps, cette litière permet aux volailles d'exprimer les comportements d'exploration, de bain de poussière et de toilettage. Les scores de « comportement de groupe », bien que globalement élevés (> 3), sont plus faibles pour les lots suivis sur litière de bouchon que sur la paille broyée, indiquant donc un picage plus fréquent dans ces lots. Cette litière croûte facilement, il est donc possible que ce phénomène créé un manque d'activités d'exploration, de bain de poussière (score « adaptations aux exigences comportementales » : 2,2 points) entraînant ainsi une augmentation des comportements de picage. Les notes de repos sont relativement basses pour l'ensemble des lots (entre 1,6 et 2,4 points) car il s'agit d'une évaluation en fin de lot, moment où la litière est dégradée et les animaux plus sales. Les scores « capacité de mouvements » sont également plus faibles (< 3), mais les animaux sur bouchon et balle de riz ont tout de même exprimés plus de comportements de confort (étirement et battement d'aile) que sur le miscanthus et la paille broyée. Les scores « prévention de blessure » et « prévention de maladies » sont globalement bons pour l'ensemble des litières. Toutefois, un lot ayant utilisé la balle de riz a présenté un critère « prévention de maladie » plus faible, car il a été observé plus d'animaux boiteux et immobiles sur ce lot qui doit donc être considéré avec prudence.

Ainsi les différences entre les litières alternatives et la paille broyée ne sont pas fortement marquées, mais certains critères sont tout de même améliorés.

CONCLUSION

Cette étude met en évidence que les litières alternatives permettent de réduire la part de pododermatites graves en fin de lot en plus d'avoir un effet positif sur certains paramètres comportementaux. Aucun effet zootechnique n'a pu être mis en évidence mais l'effectif de l'échantillon mériterait d'être plus fourni pour permettre de préciser ce point. Toutefois, ces litières présentent toutes l'inconvénient d'être plus chères que la paille broyée et il n'est pas certain que d'un point de vu économique la réduction des pododermatites permette de justifier un écart de coût de 0,42€/m². Cela dépend principalement des grilles de bonus/malus établies dans les abattoirs. Enfin la disponibilité de ces litières est encore modeste pour une utilisation à grande échelle. D'autres substrats pourront également être utilisés comme litière, avec par exemple les cosses de sarrasin, l'anas de lin ou encore l'anas de chanvre. La litière est un levier intéressant pour la gestion des pododermatites mais il n'est pas le seul : la bonne santé digestive des animaux, la gestion du système d'abreuvement, de l'ambiance du bâtiment, la densité jouent un rôle important dans le maintien d'une bonne litière et donc de l'apparition des pododermatites.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bignon L, Mika A., Chaudeau M., Dupin M., Mercerand F., Bouvarel I., 2015. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (11), 995-999

Buteau A., Warin L., 2019. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (13), 390-394

Dennery G., Deyzat E., Rousset N., 2012. In : Vers une gestion efficace des litières, de l'approvisionnement aux techniques d'élevage avicole. ITAVI, CRA Bretagne et Pays de la Loire, 50p.

Mika A., Warin L., Tombo L., Bouvarel I., Bignon L., 2019. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (13)

Passion Céréales, 2019 https://www.passioncereales.fr/dossier-thematique/les-filieres-riz-et-autres-cereales-en-chiffres

Ponchant P., 2013 https://www6.inrae.fr/animal_emissions/Projets/AFAV

Puybasset A., 2019. Réussir volaille. https://www.reussir.fr/volailles/la-litiere-de-tourbe-est-le-meilleur-compromis-pour-mon-elevage-de-poulets-lourds

Tableau 1. Notes moyenne des pododermatites et gain moyen quotidien (GMQ) pour les différentes litières

Litière		Paille broyée *(n=7)*	Miscanthus *(n=5)*	Bouchon *(n=3)*	Balle de riz *(n=4)*	Statistique
GMQ		$57,3^{a}$ ± *1,2*	$53,1^{a}$ ± *0,4*	$53,3^{a}$ ± *0,4*	$55,0^{a}$ ± *1,5*	NS
Pododermatites	J15	$2,27^{a}$ ± *0,02*	$1,86^{b}$ ± *0,04*	$1,21^{c}$ ± *0,03*	$1,50^{d}$ ± *0,03*	p<0,05
	J21	$3,13^{a}$ ± *0,03*	$2,41^{b}$ ± *0,03*	$2,01^{c}$ ± *0,05*	$2,30^{b}$ ± *0,04*	p<0,05
	J35	$4,00^{a}$ ± *0,03*	$3,42^{b}$ ± *0,04*	$3,23^{c}$ ± *0,06*	$3,00^{d}$ ± *0,04*	p<0,05

Tableau 2. Analyses des fumiers pour les différentes litières

Litière	Paille broyée *(n=5)*	Miscanthus *(n=5)*	Bouchon *(n=2)*	Balle de riz *(n=3)*	Statistique
Matière sèche	57,9 ±*2,8*	61,9 ±*3,3*	**45 ±*3,0***	56,4 ±*3,0*	NS
Carbone organique (g/kg)	261,3 ±*15,4*	259,8 ±*19,2*	**193,6 ±*17,6***	227,4 ±*11,5*	NS
Azote total (g/kg)	23,9 ±*1,4*	24,0 ±*1,2*	**23,2 ±*0,43***	22,3 ±*0,7*	NS
Azote ammoniacal (g/kg)	2,7 ±*0,3*	2,5 ±*0,3*	**2,3 ±*0,1***	2,6 ±*0,3*	NS
Rapport C/N	11,3 ±*1,2*	11,0 ±*1,0*	**8,4 ±*0,6***	10,2 ±*0,4*	NS
Phosphore P_2O_5 (g/kg)	9,3 ±*0,7*	11,2 ±*0,36*	**8,5 ±*1,0***	9,2 ±*0,8*	NS
Potassium K_2O (g/kg)	18,3 ±*1,3*	19,3 ±*1,5*	**14,9 ±*0,7***	16,4 ±*0,8*	NS

Figure 1. Part de chaque score de pododermatite en fin de lot (J35)

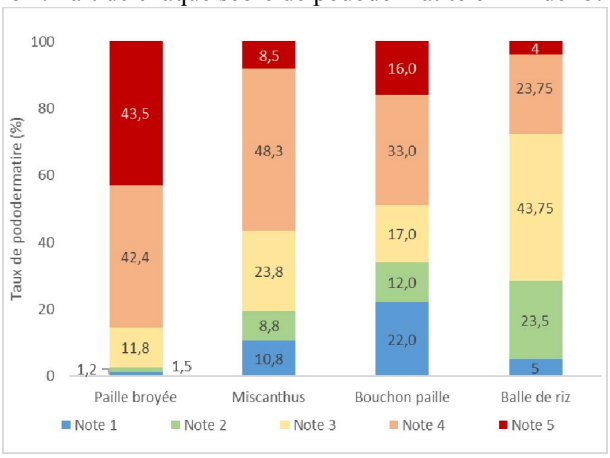
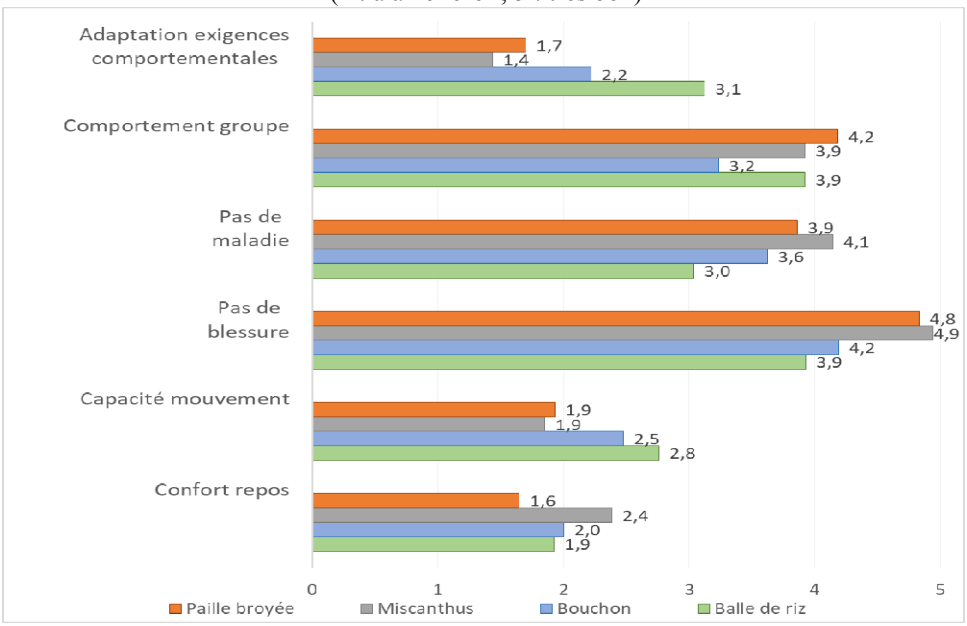


Figure 2. Score EBENE®, évaluation du bien-être (J35)
(1 : à améliorer ; 5 : très bon)



EFFETS DE LA DENSITE D'ELEVAGE SUR LE POIDS VIF ET LES INDICATEURS DE BIEN-ETRE CHEZ LE POULET DE CHAIR

Elodie Guettier[1], Jérémy Bernard[2], Marine Chahnamian[2], Patrice Ganier[2], Sandrine Mignon-Grasteau[1]

[1]BOA, INRAE - Université de Tours - 37380 NOUZILLY - France
[2] PEAT, INRAE, 37380 NOUZILLY, France

elodie.guettier@inrae.fr

RÉSUMÉ

Pour répondre à la demande en viande de poulets à partir des années 1950, la sélection génétique a augmenté la vitesse de croissance des animaux, leur efficacité alimentaire et les densités en élevage ont également été accrues.

De nombreux scientifiques ont étudié le comportement des poulets de chair et ont mis en évidence des effets néfastes sur l'animal liés à des densités très élevés tels qu'une diminution des déplacements, des problèmes de tarses et de pododermatites, un déséquilibre des paramètres sanguins, ce qui affecte leur bien-être (Alaeldein M et al, 2013; Sanotra et al., 2002 ; Hall, 2001 ; Arnould, 2005 ; Dawkins, 2013 ; Bessei, 2006 ; EFSA Panel, 2012). Cette étude s'intéresse à l'observation de certains comportements dans 2 situations contrastées de densité d'élevage sur une souche à croissance rapide largement utilisée. Deux lots de poulets Ross 308 ont été élevés jusqu'à 35 jours à des densités « faible » (20kg/m²) ou élevée (39kg/m²) dans un parquet de 12 m² pour chaque lot. Des observations vidéo ont été réalisées sur l'ensemble des animaux présents, à raison de 9 observations par jour, 3 jours par semaine, de J7 à J35. Les comportements observés sont : couché, en déplacement, mange, boit, étirement, toilettage et interactions sociales. Des évaluations avec la grille EBENE® ont été réalisés en direct 3 fois à 21, 28 et 35 jours pour relever des indicateurs d'état sanitaire (exemples : boiterie, lésion) et comportementaux. La croissance des animaux a été suivie grâce à une pesée individuelle hebdomadaire.

Les poulets sont significativement plus lourds à densité faible qu'à densité élevée à partir de J21. A densité élevée, les animaux se déplacent moins et expriment moins de comportements de confort (toilettage, étirements) qu'à faible densité, surtout en fin d'élevage (à partir de J21). D'après les résultats EBENE®, les scores associés aux indicateurs « immobiles », « boiteux », « lésions », « halètement » et « qualité de litière » sont meilleurs à densité faible qu'à densité élevée. A densité faible, l'état sanitaire des animaux est amélioré, ainsi que l'expression de certains comportements de confort.

ABSTRACT

To meet the demand for chicken meat since the 1950's, genetic selection has increased the growth rate of the animals, their feed efficiency and the densities in the farm have also been increased.

Many scientists have studied the behavior of broilers and have highlighted adverse effects on the animal related to very high densities such as decreased movement, tarsal and pododermatitis problems, imbalance of blood parameters, which affects their welfare (Alaeldein M et al, 2013; Sanotra et al., 2002 ; Hall, 2001; Arnould, 2005; Dawkins, 2013; Bessei, 2006; EFSA Panel, 2012). This study is interested in observing certain behaviors in 2 contrasting stocking density situations on a widely used fast-growing strain. Two batches of Ross 308 chickens were reared to 35 days of age at 'low' (20kg/m²) or 'high' (39kg/m²) densities in a 12 m² floor for each batch. Video observations were made on all the animals present, at a rate of 9 observations per day, 3 days per week, from D7 to D35. The behaviors observed were: lying down, moving, eating, drinking, stretching, grooming and social interactions. Evaluations with the EBENE® grid were performed live 3 times at 21, 28 and 35 days to record health (e.g. lameness, lesions) and behavioral indicators. The growth of the animals was monitored by individual weekly weighing.

Broilers were significantly heavier at low density than at high density from day 21. At high density, the animals moved less and expressed less comfort behaviors (grooming, stretching) than at low density, especially at the end of rearing (from D21). According to EBENE® results, the scores associated with the indicators "immobile", "lame", "lesions", "panting" and "litter quality" are better at low density than at high density. At low stocking densities, the health status of the animals is improved.

INTRODUCTION

Le bien-être des animaux d'élevage fait partie des préoccupations croissantes de la population, dont les éleveurs et les parties prenantes des filières. En effet, il a été fortement réduit par la sélection génétique et l'évolution des pratiques d'élevage comme l'augmentation de la densité animale (Roguet et al., 2017). Afin de définir un cadre de production commun, la directive européenne de 2007 sur la protection des poulets de chair, fixe la densité maximale à 33 kg/m² (~ 17 poulets/m²). Deux dérogations permettent d'atteindre des densités plus élevées, de 39 à 42 kg/m² (~ 20-22 poulets/m²), sous réserve de respecter certaines exigences (ambiance, mortalité). Ce cadre réglementaire est critiqué par les ONG qui militent, au travers de l'ECC (European Chicken Commitment) pour une densité maximale de 30kg/m², sans dérogation possible. En effet, plusieurs scientifiques ont étudié le comportement des poulets de chair () et s'accordent sur le fait que la restriction d'espace limite fortement les déplacements, la capacité de mouvement, l'expression des comportements et dégrade des paramètres de santé (Alaeldein M et al, 2013 ; Sanotra et al., 2002 ; Hall, 2001 ; Arnould 2005 ; Dawkins, 2013 ; Bessei, 2006 ; EFSA Panel, 2012). Des études complémentaires ont mis en évidence les impacts négatifs d'une densité élevée sur les performances zootechniques (Thomas et al, 2004) ; les résultats sont moins tranchés quand il s'agit d'observations comportementales (Hall, 2001 ; Škrbić et al., 2009 ; Buijs et al., 2009). Danscette étude, nous avons testé les indicateurs de bien être des poulets de chair validés dans le cadre du protocole Welfare Quality, dans deux situations contrastées de densité (10 poulets/m² versus 20 poulets/m²). Nous avons également mesurél'état sanitaire et le poids vif des animaux. Une évaluation complémentaire du bien-être animal a été faite en utilisant la méthode EBENE® (Bignon et al., 2017).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et dispositif expérimental

Trois cent soixante-dix poulets mâles et femelles de souche Ross 308 sont arrivés à l'âge d'1 jour au Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (INRAE PEAT ; Etablissement Utilisateur d'animaux à des fins scientifiques n° D-37-175-1 ; https://doi.org/10.15454/1.5572326250887292E12).
Ils ont aussitôt été aléatoirement répartis en deux groupes : - Dens- : densité (estimée à J35 d'après les normes de croisement) de 20 kg/m² comparable aux normes poulets label, - Dens+ : densité de 39kg/m² comparable aux normes des poulets standard.
Chaque groupe était installé dans un parquet de taille identique (12 m²) et comprenait donc un nombre d'animaux différent (Dens- : 124 animaux, Dens+ : 245 animaux). Les deux parquets étaient dans la même salle et les conditions d'élevage étaient similaires à celles pratiquées sur le terrain. La litière était composée de paille broyée à raison de 1,5 kg/m². Le programme lumineux comprenait 23 h d'éclairage de J1 à J7, puis 18 h d'éclairage de J7 à l'abattage (à J35), en veillant à ce que chaque parquet reçoive la même intensité lumineuse de 50 lux. L'aliment a été distribué dans des mangeoires circulaires de 38 cm de diamètre avec hauteur réglable en fonction de l'âge des animaux. Le nombre de mangeoires dans chaque parquet (Dens- : 2 ; Dens+ : 4) suivait les recommandations du guide d'élevage des Ross 308 (70 oiseaux/mangeoire de 38 cm de diamètre. L'aliment distribué est un aliment standard adapté à la croissance du Ross 308.

1.2. Observations du comportement par vidéo

Les comportements ont été étudiés grâce à des observations par vidéo (via l'installation de caméras fixées au plafond) pour ne pas stresser les animaux et pouvoir détecter des comportements tels que les interactions sociales. Pour prendre en compte la variabilité d'activité au cours de la journée (Bizeray et al., 2004), nous avons réalisé des enregistrements vidéo d'une heure 3 fois par jour (de 7 à 8 h, du 15 à 16 h et de 22 à 23 h), 3 jours par semaine (mardi, jeudi et samedi) de J7 à J35. Les observations ont été enregistrées sur la base de 3 scans/heure, soit un total de 117 scans par groupe. Les comportements observés étaient : couché, se déplace, mange, boit, s'étire (les ailes ou les pattes), se toilette et interactions sociales.

1.3. Evaluation du bien-être

Une évaluation du bien-être des animaux a été réalisée par un observateur formé en utilisant la méthode EBENE® (Bignon et al, 2017). Celle-ci consiste à observer les animaux sans manipulation et à collecter des indicateurs de bien-être. Chaque indicateur est associé à un score entre 0 (très mauvais) et 5 (très bon). Ces scores sont agrégés au sein de 12 critères du bien-être. Les différences sont jugées comme significatives à partir de 1 point de score. Les évaluations EBENE® ont été réalisées 3 fois à 21, 28 et 35 jours et un scoring des pododermatites a été réalisé en fin de période d'élevage (le jour de la dernière pesée).

1.4. Suivi de croissance

Une pesée hebdomadaire individuelle a été réalisée pour tous les animaux, soit 7 mesures par animal.

2. Analyses statistiques

L'analyse de l'effet de la densité a été réalisée sur les données de comportement par analyse de variance avec la procédure GLM de SAS (SAS9.4, ©2016) avec le modèle suivant :

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + D_j + M_k + e_{ijkl}$$

où y_{ijkl} est le comportement observé dans le parquet à l'âge i et au moment k, μ la moyenne générale, A_i l'effet de l'âge (N=5), D_j l'effet de la densité j (N=2), M_k l'effet du moment de la journée (N=3) et e_{ijkl} le résidu du modèle.

L'effet de la densité sur le poids selon l'âge a été analysé par un test ANOVA comprenant les effets du sexe, de la densité et de leur interaction.

Nous n'avons pas réalisé d'étude statistique sur les données collectées lors de l'évaluation du bien-être (méthode EBENE).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Effets de la densité sur la croissance

Les animaux ont eu une courbe de croissance légèrement inférieure aux prévisions établies dans le guide d'élevage 2019 (Tableau 1), probablement en raison d'un épisode de colibacillose en début de période. Les poulets Dens+ étaient plus légers que les Dens- à partir de J21 (Tableau 1). Une moins bonne régulation thermique en raison de difficultés à dissiper la chaleur corporelle en serait la cause principale (Feddes et al., 2002, Arnould, 2005, Zabir et al., 2021). Certains auteurs (Sorensen et al., 2000, Dozier et al., 2006) suggèrent que la réduction de la masse corporelle finale peut être liée à la diminution de la consommation de nourriture en raison de la difficulté d'accès à l'espace d'alimentation dans des conditions de densité élevée. Toutefois, dans notre étude, le nombre de mètres linéaires disponible par animal était identique dans les deux parquets. Cette différence de poids pourrait alors s'expliquer par des difficultés de déplacement plus importantes, voire des difficultés d'accès à la mangeoire, en raison des autres congénères qui en bloquent l'accès en se couchant devant.

2.2. Effets de la densité sur le niveau de bien-être global

Les meilleurs scores par critère EBENE® sont obtenus pour le parquet Dens-, sauf pour le critère « comportement de groupe » puisqu'un picage agressif a été observé sur ce parquet. Des différences sont observées (supérieures ou égales à 1 point de score) pour les critères « capacité de mouvement », « prévention des blessures » et « soin aux animaux malades », respectivement +1,36 et +1,29 pour le parquet Dens- par rapport au parquet Dens+ (Tableau 1), en raison d'un taux de mortalité plus faible. Le score de « capacité de mouvement » est plus élevé pour Dens+ car il intègre la surface non occupée par animal dans le parquet.

2.3. Effets de la densité sur le comportement

Pour les variables comportementales « couché », « se déplace » et « s'étire », nous avons détecté une interaction entre la densité et l'âge (Figure 2A, 2B, 2C). Les animaux sont plus fréquemment couchés, se déplacent moins et s'étirent plus en vieillissant. Les animaux Dens+ se déplacent moins, sont plus souvent couchés et s'étirent moins. L'interaction entre densité et âge sur ces variables vient du fait que la différence entre les parquets à faible et haute densité augmente avec l'âge. En effet, les densités de 20kg/m² (Dens-) et 39 kg/m² (Dens+) sont celles que l'on autorise à 35jours d'âge. Plus jeune, les animaux sont moins lourds et l'espace disponible pour exprimer ses comportements est plus important. Cet espace diminue avec la croissance des animaux et donc avec l'âge.

Les comportements de toilettage (Figure 2D) sont moins fréquents pour Dens+, mais l'interaction entre l'âge et la densité n'est pas significative.

Les comportements d'alimentation, d'abreuvement ainsi que les interactions sociales ne sont pas impactés par la densité. En revanche, comme attendu, les comportements d'abreuvement et d'alimentation sont plus fréquents le matin que l'après-midi et le soir, ce qui correspond au pic d'alimentation des animaux au moment de l'allumage des lumières.

Les animaux sont plus fréquemment couchés et s'étirent davantage l'après-midi que le matin et le soir, ce qui correspond au moment de la journée où les animaux sont moins actifs pour l'alimentation et l'abreuvement.

Les comportements d'alimentation, d'abreuvement ainsi que les interactions sociales ne sont pas impactés par la densité. Toutefois, il a été constaté que les animaux s'alimentent et boivent plus le matin en comparaison à l'après-midi et au soir.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en relation le niveau de bien-être global des animaux avec des éléments de leur comportement. Ainsi, nous avons pu confirmer que la réduction de la densité d'élevage améliore des critères tels que le confort au repos, la capacité de mouvement, l'accès à l'alimentation et l'abreuvement, le comportement de groupe et l'adaptation aux exigences comportementales des animaux. Elle favorise également l'expression des comportements naturels (toilettage et étirement), ainsi que l'activité locomotrice de l'animal. Nos résultats montrent également que dans les conditions de l'étude, les performances zootechniques sont améliorées avec un meilleur respect du bien-être des animaux, ce qui correspond aujourd'hui au meilleur compromis que l'on peut imaginer pour un élevage durable répondant aux principes de l'agroécologie.

REMERCIEMENTS

Cette étude, réalisée dans le cadre de l'UMT BIRD, a été financée par le fonds CASDAR (projet e-Broiler Track, 2018-2022). Les auteurs remercient le personnel de l'unité expérimentale INRAE (PEAT) pour le suivi expérimental.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alaeldein M. Abudabos, Emad M. Samara, Elsayeid O.S. Hussein, Mu'ath Q. Al-Ghadi & Raed M. Al-Atiyat. Italian Journal of Animal Science, 12:1, e11, DOI: 10.4081/ijas.2013.e11
Arnould C. 6. Journées de la Recherche Avicole, Mar 2005, St Malo, France. ⟨hal-02759585⟩
Bessei, W., 2006. Poultry Sci. J. 62:455-466
Bignon L., Mika A., Mindus C., Litt J., Souchet C., Bonnaud V., Picchiottino C., Warin L., Bouvarel I., 2017. 12e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 05 et 06 avril 2017
Bizeray D., Faure J.M., Leterrier C., 2004. INRAProd. Anim., (17), 45-57.
Dawkins M.S., Cain R., Merelie K., Roberts S.J., 2013. Appl. Anim. Behav. Sci., (145), 44-50.
EFSAPanel on Animal Health and Welfare(AHAW)
Scientific Opinion on the use of animal-based measures to assess welfare of broilers1, EFSA Journal 2012;10(7):2774
Feddes J.J.R. , Emmanuel E.J., Zuidhof M.J., 2002. Poult. Sci., (81), 774-779.
Hall A.L. (2001). Animal Welfare, 10, 23-40.
Roguet C., Neumeister D., Magdelaine P., Dockès A.C., 2017.In : 12èmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 05-06/04/2017.
Sanotra, G. S., Lund, J. D., & Vestergaard, K. S. (2002). British Poultry Science, 43(3), 344-354.
Škrbić Z., Pavlovski Z., M. Lukić, L. Perić, N. Milošević - Biotechnology in Animal Husbandry 25 (1-2), p 11-21 , 2009
Welfare Quality®, 2009. Welfare Quality®assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). Welfare Quality®Consortium, Lelystad, The Netherlands, 114 pp.
Zabir, Mishkatul; Miah, Mohammad Alam; Alam, Mahabub; Jahan Bhuiyan, Md. Eftakhar; Haque, Md. Iqramul; Sujan, Khaled Mahmud; Mustari, Afrina ; Journal of Advanced Veterinary & Animal Research . Dec2021, Vol. 8 Issue 4, p642-649. 8p.

Age (j)	Parquet A (20kg/m²)	Parquet B (39kg/m²)	Ecart type standard	Référence guide élevage
0	42	42	± 3.11	43
7	172	172	± 20.81	208
14	424	403	± 62.13	519
21	823	757	± 138.25	985
28	1385	1249	± 222.02	1573
35	2075	1781	± 314.88	2235

Tableau 1 : Poids des animaux (en g, ± écart-type) en fonction de la densité et valeurs théoriques du guide d'élevage 2019 des Ross 308.

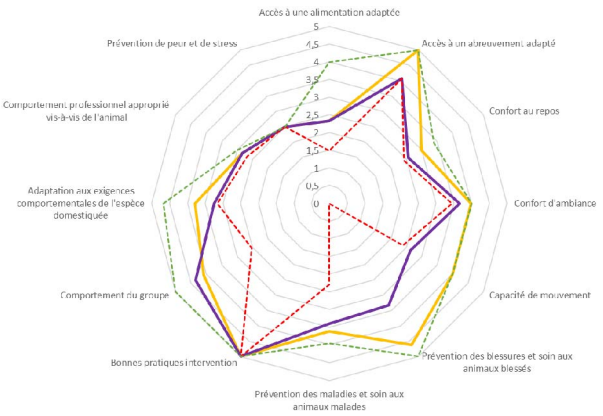


Figure 1 : Sensibilité globale des critères de bien-être EBENE. Trait jaune = moyenne du parquet « faible densité » (n=124 animaux), trait violet = moyenne du parquet « haute densité » (245 animaux), traits discontinus rouge et vert = respectivement, minimum et maximum observés pour chacun des critères.

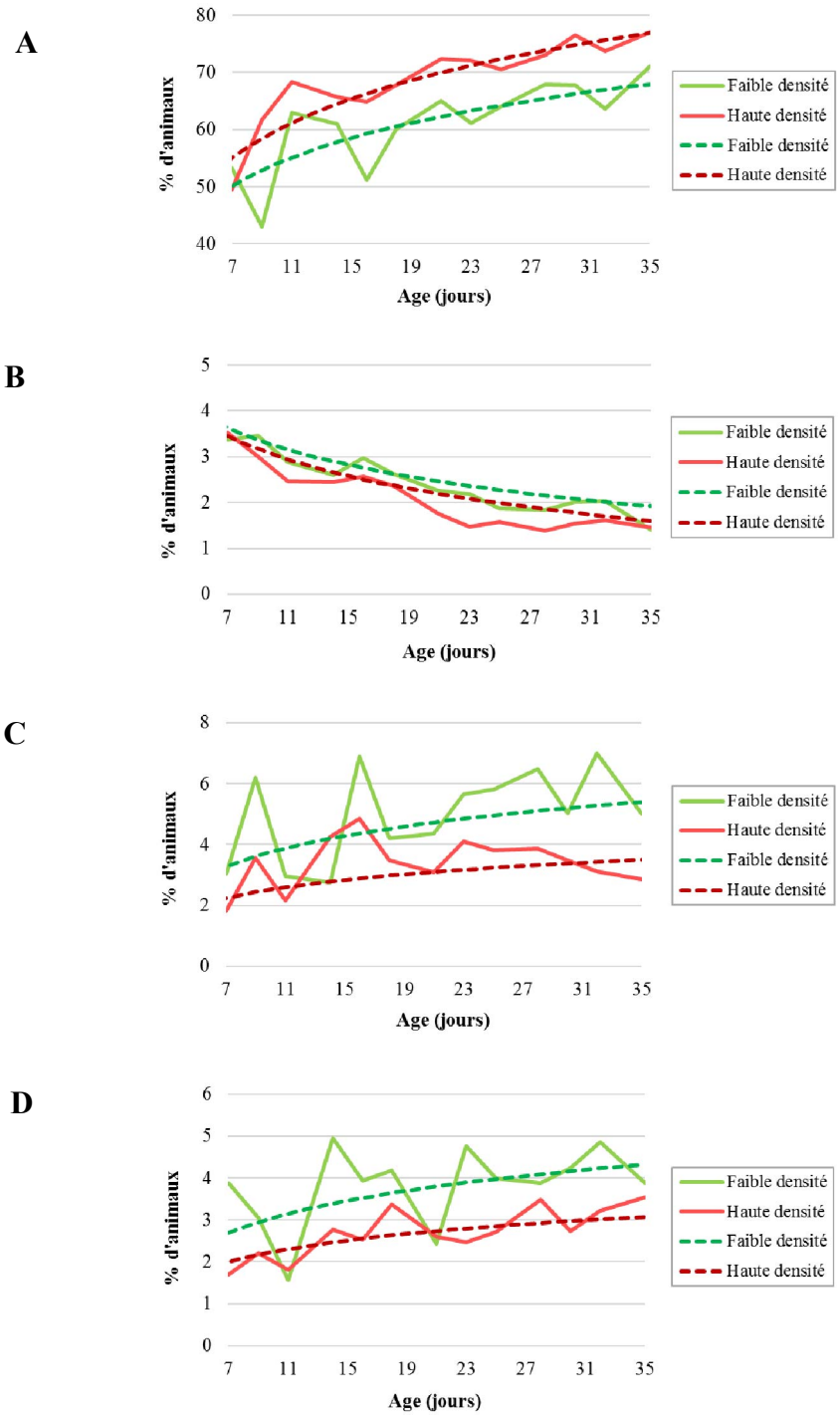


Figure 2 : Evolution du pourcentage d'animaux en position couchée (**A**), en déplacement (**B**), qui s'étirent (**C**) et qui se toilettent (**D**) dans les parquets « faible densité » et « haute densité », en fonction de l'âge. Les courbes pleines représentent les données brutes tandis que les courbes en pointillé représentent les données traitées avec l'analyse GLM (modèles). Les valeurs pour le critère « déplacement » sont exprimées en logarithme népérien.

INCIDENCES DE LA GESTION DE LA QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE DE L'EAU DE BOISSON DANS LES ELEVAGES DE VOLAILLES DE CHAIR.

Galtier Nicolas[1], Remiot Paul[2], Chevalier Denis[2], Chataigner Eric[3]

[1]Ecole d'Ingénieur de Purpan – 75 voie du Toec – 31076 TOULOUSE,
[2]MG2MIX - Zone d'activité de la Basse Haye - 35220 CHATEAUBOURG
[3]Chêne Vert Conseil – Zone industrielle de Bellevue – 35220 CHATEAUBOURG

p.remiot@mg2mix.fr

RÉSUMÉ

L'eau étant le premier intrant en élevage avicole, ses propriétés bactériologiques et physiques doivent suivre certaines règles pour ne pas nuire aux performances zootechniques des volailles. L'objectif de cette étude est de comprendre l'influence de la qualité physico-chimique de l'eau de boisson sur les performances des volailles de chair. Une enquête en élevages a été menée entre mars et juin 2021 dans 77 élevages de dindes et de poulets de chair de 3 zones de France : Bretagne, Pays de la Loire – Normandie et Auvergne - Rhône Alpes. Le questionnaire d'enquête permettait de relever les pratiques de chaque éleveur autour de l'eau de boisson (désinfection, purges, acidification, traitement) afin de les relier aux mesures de qualité physico-chimique de l'eau réalisées en bout de ligne dans le bâtiment d'élevage lors de la visite (en phase de croissance). Enfin les données de performances zootechniques des lots ont été collectées après abattage (poids moyen, gain moyen quotidien, indice de consommation). Il est apparu que la qualité de l'eau dispensée dans le bâtiment d'élevage, différait en fonction de son origine (réseau, puits/forage), en termes de pH (6,78 vs 5,66) et de dureté (13,8°F vs 10,7°F), et ce malgré les traitements appliqués. Ensuite, aucun effet de l'acidification ou de la dureté de l'eau sur les performances techniques n'a été mis en évidence au cours de l'enquête avec les résultats d'abattage au sein des 3 catégories de production. D'autre part, les pratiques de purges par les éleveurs ont pu être liées à une réduction du développement du biofilm dans les circuits d'abreuvement (p-value<0,10). Enfin, le choix de l'équipement et son réglage semblent impacter la détérioration de la litière, alors qu'aucun effet de l'acidification sur la qualité de la litière n'a été montré. Cette étude souligne que le travail (réglage, entretien) de l'éleveur sur l'abreuvement de ses animaux peut en influencer les performances.

ABSTRACT
Impact of the management of the physico-chemical quality of drinking water in poultry farms.

As water is the primary input in poultry production, its bacteriological and physical properties must follow certain rules in order not to adversely affect the zootechnical performance of poultry. The objective of this study is to understand the influence of the physico-chemical quality of drinking water on the performance of broiler poultry. An on-farm survey was conducted between March and June 2021 in 77 turkey and broiler farms in 3 areas of France: Bretagne, Pays de la Loire - Normandie and Auvergne - Rhône Alpes. The survey questionnaire made it possible to record the drinking water practices of each farmer (disinfection, purging, acidification, treatment) in order to link them to the physico-chemical water quality measurements carried out at the end of the line in the farm building during the visit (in the growth phase). Finally, the zootechnical performance data of the batches were collected after slaughter (average weight, average daily gain, feed conversion ratio). It appeared that the quality of the water supplied to the barn differed according to its origin (network, well/borehole), in terms of pH (6.78 vs. 5.66) and hardness (13.8°F vs. 10.7°F), and this despite the treatments applied. Secondly, no effect of water acidification or hardness on technical performance was found during the survey with slaughtering results within the 3 production categories. On the other hand, purging practices by farmers could be linked to a reduction in the development of biofilm in the watering circuits (p-value<0.10). Finally, the choice of equipment and its adjustment seemed to have an impact on litter deterioration, whereas no effect of acidification on litter quality was shown. This study underlines that the farmer's work (adjustment, maintenance) on the watering of his animals can influence their performance

INTRODUCTION

L'eau de boisson est considérée comme le premier aliment des volailles. D'un point de vue digestif, l'eau permet de ramollir les aliments et ainsi de favoriser le transit l'absorption des nutriments. Elle joue également plusieurs rôles physiologiques au sein de l'organisme : évapotranspiration, transport des nutriments et réactions enzymatiques et chimiques (Dennery, Dezat, et Aubert, 2012).
En élevage, une volaille de chair consomme en moyenne 1,8L d'eau par kg d'aliment ingéré. L'eau de boisson qui est définissable par sa qualité bactériologique et sa qualité physico-chimique est donc un élément essentiel pouvant influencer les performances des oiseaux (Guérin et al., 2018 ; Ben Hassine, 2019). La qualité d'une eau est évaluée selon plusieurs indicateurs quantifiables au moyen d'analyses qu'il est préconisé de réaliser au moins une fois par an. Des seuils de potabilité d'une eau en fonction de ces indicateurs se basent sur la réglementation de la potabilité de l'eau pour la consommation de l'Homme (ITAVI, 2007).

La prolifération de micro-organismes sur les parois d'une canalisation d'eau en élevage peut aboutir à la génération d'un complexe appelé biofilm. Ce film biologique est composé de bactéries, d'algues, de protozoaires et de champignons, englobés dans une matrice. Ce phénomène est favorisé dans une eau stagnante, ou circulant à faible débit, par le dépôt de matières organiques et de minéraux qui servent de substrat, et par des températures élevées dans le bâtiment (Venne, 2009). Bien que le traitement de désinfection de l'eau dans les bâtiments d'élevage, s'il est bien réalisé, élimine les micro-organismes déjà présents, il n'assure pas une stérilité de l'eau. Ainsi, cette eau est susceptible de subir, dans les canalisations d'élevage, une colonisation de microorganismes (Gauthier, 2002). Plusieurs procédés permettent d'assainir l'eau de contaminants organiques, dont les plus répandus sont la chloration, l'utilisation de dioxyde de chlore ou de peroxyde d'hydrogène et le système d'électrolyse (Paz, 2020).

En lien avec la qualité sanitaire de l'eau, ses paramètres physico-chimiques peuvent influencer les traitements d'assainissement, être favorables au développement bactérien, perturber le digestif des animaux ou encore altérer le matériel.

Dans ce but, la collecte de données par une enquête en élevages, a permis de considérer l'eau au sein du système « bâtiment d'élevage » en lien avec les pratiques des éleveurs et les performances zootechniques.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Sélection des élevages

L'étude a été réalisée dans des élevages commerciaux de volailles et de dindes de chair en claustration, sans accès à une source d'eau extérieure.
Les productions dites « standard » de ces espèces ont été sélectionnées afin de comparer des conduites d'élevages proches.

La sélection d'élevages a été réalisée auprès de 8 organisations de production avicoles de France, afin de constituer des échantillons représentatifs de leur production.

1.2. Questionnaire d'enquête et grilles d'évaluation

L'objectif du questionnaire d'enquête était de renseigner les pratiques de l'éleveur relatives à la distribution de l'eau de boisson aux volailles.
Des grilles d'évaluation ont aussi été élaborées pour qualifier des paramètres d'élevage comme l'état de la litière ou comme le réglage du matériel d'abreuvement afin de collecter des données techniques de gestion du lot.

1.3. Visites en élevages

Les visites en élevage ont eu lieu en présence d'animaux en phase de croissance : après 21 jours pour des poulets de chair standards, après 28 jours pour des poulets certifiés et après 56 jours pour des dindes de chair.
Lors de la visite dans le bâtiment d'élevage, les paramètres relatifs à la qualité physico-physique de l'eau de boisson ont été mesurés directement en bout de ligne enquêté via un prélèvement de 250 mL d'eau minimum.
Les paramètres suivants ont ainsi été analysés dans chaque élevage :
- Le pH par un pHmètre Hannah Combo ®
- La dureté par dosage colorimétrique (kit Visocolor alpha Dt ®)
- Le fer par dosage colorimétrique Visocolor ECO ®
- Le manganèse par dosage colorimétrique Visocolor HE ®
- Le chlore libre par dosage colorimétrique Visocolor alpha Cl ®
- Le peroxyde d'hydrogène par bandelette « peroxyde 25 ».

Enfin, l'intérieur de la ligne d'eau a été observée au bout d'1 ligne d'eau centrale au moyen d'une caméra endoscopique NeKan ® dans le but d'évaluer la présence de biofilm, sur une échelle de 0 (absence de biofilm) à 4 (biofilm très développé). Cette échelle est reprise dans la Figure 1.

1.4. Analyses statistiques

Une analyse descriptive des données a été menée par l'étude de la distribution des variables, en utilisant les logiciels R et Excel. Une analyse bivariée au seuil de risque $\alpha<10\%$ a été réalisée pour étudier les relations entre les variables. Des tests de comparaison de

moyennes ont été menés sur les variables quantitatives dont la normalité des distributions a été préalablement vérifiée par le test de Shapiro-Wilk. Le test de Wilcoxon (2 échantillons) et le test de Kruskall-Wallis (>2 échantillons) ont été utilisés pour comparer les moyennes des variables ne suivant pas une loi Normale.
Les variables qualitatives ont été comparées via des tris croisés (tableaux de contingence), puis des tests d'indépendance du Chi-2 ou des tests exacts de Fisher dans le cas d'effectifs inférieurs à 5. Les relations entre toutes les variables d'intérêt ont été étudiées par une analyse des correspondances multiples (ACM) pour identifier l'influence des pratiques d'abreuvement sur les performances zootechniques.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'enquête en élevage s'est déroulée de mars à juin 2021, et a été réalisée auprès de 77 éleveurs de France. Les mesures de qualité d'eau et les observations zootechniques ont été réalisée dans 1 bâtiment d'élevage de chaque ferme visitée.

2.1. Paramètres physico-chimiques de l'eau selon son origine

Le bâtiment d'élevage peut être alimenté par l'eau du réseau public ou par une installation privée puisant son origine d'un forage de surface ou d'un puit. Le Tableau 1 reprend les moyennes des résultats des mesures de pH et de dureté des eaux prélevées au cours de l'enquête, en fonction de leur origine. En moyenne, l'eau en bout de ligne d'abreuvement de l'ensemble de l'effectif était acide (pH=6,13) et douce (TH=12,0°F).
Le pH des eaux de réseau était significativement plus basique que celui des eaux issues de forages ou de puits (6,78 > 5,66 ; $p<0,01$ – test de Wilcoxon).
La dureté des eaux issues du réseau est également significativement plus dure que celles issues d'un forage ou d'un puit (13,8 > 10,7 ; $p<0,01$), dans le cadre de l'enquête.
Les éleveurs utilisant de l'eau de réseau potable pour leurs animaux ne semblent pas travailler le pH pour l'acidifier.

Parmi les eaux avec un excès de manganèse (Mn), une seule tirait son origine du réseau. Pour les eaux de forage ou de puit, le Mn a été mesuré en excès dans 20 des 45 prélèvements réalisés au cours de l'enquête ($p<0,01$ – test de Fischer), comme récapitulé dans le Tableau 2.
Le constat n'est pas aussi significatif pour la teneur en fer (Fe) dans les eaux de forage – puits, où il s'est avéré être en excès dans seulement 7 élevages sur 45.
L'eau de réseau apparait donc être moins contaminée par le Mn et le Fe, alors qu'il est généralement nécessaire aux éleveurs d'utiliser des installations de traitement pour des eaux issues de forages ou de puits.

L'eau issue du réseau public est chlorée dans les stations de traitement, en amont des élevages. Malgré une teneur plus élevée en chlore libre dans les eaux de réseau (0,46mg/L *vs* 0,32mg/L), le niveau de chlore libre en bout de ligne est en dessous des recommandations (> 0.5 ppm) 57 des 77 élevages visités.

2.2. Paramètres physico-chimiques de l'eau selon son origine

La Figure 1 représente les résultats de l'ACM réalisée sur les variables de l'enquête. Cette cartographie de modalités permet de mettre en évidence une typologie de facteurs et pratiques d'élevage en relation avec la qualité de l'eau de boisson.
Ainsi, 3 profils d'eaux de boisson ont été isolés à partir de cette analyse.

D'une part, les eaux de Réseau, associées à un pH basique (>7.5) et une dureté comprise entre 7 et 14 °F. Les éleveurs distribuant cette eau à leurs animaux n'utilisent pas d'acides organiques (AC_ORGA_X). Une caractérisation du biofilm associée à ces eaux n'a pas pu être faite au cours de l'enquête.

D'autre part, les eaux sans biofilm (ABSENT), caractérisée par la présence de Chlore libre en bout de ligne (Chlore_OK), en lien avec une utilisation continue d'un désinfectant en amont de la distribution d'eau (CONTINU). Dans ce groupe, les eaux sont généralement acidifiées par un acide minéral (AC_MNL_OK) pour atteindre un pH inférieur à 6,5 (<6,5).

Enfin, le dernier profil d'eaux sont issues de puits ou de forages (PUIT-FORAGE) et associées à l'utilisation de peroxyde comme désinfectant et retrouvé ou non en quantité suffisante en bout de ligne (Peroxyde_OK et Peroxyde_X). L'utilisation d'acides organiques y est généralement associée (AC.ORGA_OK) afin de réduire le pH, alors qu'ils ont un effet limité sur l'acidification de l'eau, avec un pH plutôt neutre (6,5 à 7,5). La dureté de l'eau n'y est pas conforme aux préconisations : ou trop douce, ou trop dure (NC). Ces éléments sont également associés à la présence de biofilm dans les lignes d'abreuvement (PRESENT).

CONCLUSION

L'enquête n'ayant pas fait de lien direct avec les performances zootechniques, l'analyse de composante multiples avait pour objectif de mettre en évidence des pratiques pouvant influencer la qualité de l'eau de boisson. Ainsi, la présence de biofilm a pu être associée ici à une maitrise limitée des moyens de traitement et d'acidification de l'eau.

Le lien entre performances zootechniques et qualité physico-chimique de l'eau de boisson pourrait être

étudié à travers une enquête plus longue dans le temps où plusieurs les résultats techniques de plusieurs lots successifs seraient pris en compte. Au-delà des performances zootechniques (poids, IC, IP) les données sanitaires (mortalité à 10 jours, utilisation de traitements médicamenteux, qualité bactériologique de l'eau) pourraient également y être intégrés.

Une maitrise du biofilm passe ainsi par un traitement désinfectant distribué en continue de manière efficace (retrouvé en bout de ligne), associé à un pH acide obtenu au moyen d'acides minéraux.

Il conviendrait de poursuivre cette étude en se focalisant sur une espèce donnée. La précision des différentes molécules associées aux traitements (désinfections, acides minéraux, acides organiques) permettrait également d'affiner les intérêts et limites de chacune.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ben Hassine, Thameur., 2019. Afrique Agriculture, (431), 18□20.
Dennery G., Dezat E., Aubert C., 2012. In : L'eau en élevage avicole : une consommation maitrisée, pp34.
Gauthier F., 2002. Biofilms et qualité biologique de l'eau potable au cours de sa distribution (Amiens : Université de Picardie), pp78.
Guérin J L., Balloy D., Facon C., Villate D., 2018. In : Maladies des volailles (Editions France Agricole), pp582.
ITAVI., CA des Pays de la Loire., 2007. Eau de boisson en élevage avicole : un levier majeur de réussite [En ligne] pp12.
Paz P., 2020. Afrique Agriculture, (439), p10□12.
Venne D., 2009. Bul. de l'Ac. Vét. de France, (1), p277.

Tableau 1. Moyennes de pH et de dureté des eaux prélevées en bout de ligne d'abreuvement des élevages de l'enquête

Moyenne	**PUIT - FORAGE n = 45**	**EAU DE RESEAU n = 32**	**Total général N = 77**	**P-Value** (*Test*)
pH	5,66	6,78	6,13	**0.00**
Ecart-type pH	*1,16*	*1,35*	*1,35*	*(Wilcoxon)*
Dureté (°F)	10,7	13,8	12,0	**0.00**
Ecart-type Dureté	*8,2*	*7,2*	*7,9*	*(Wilcoxon)*

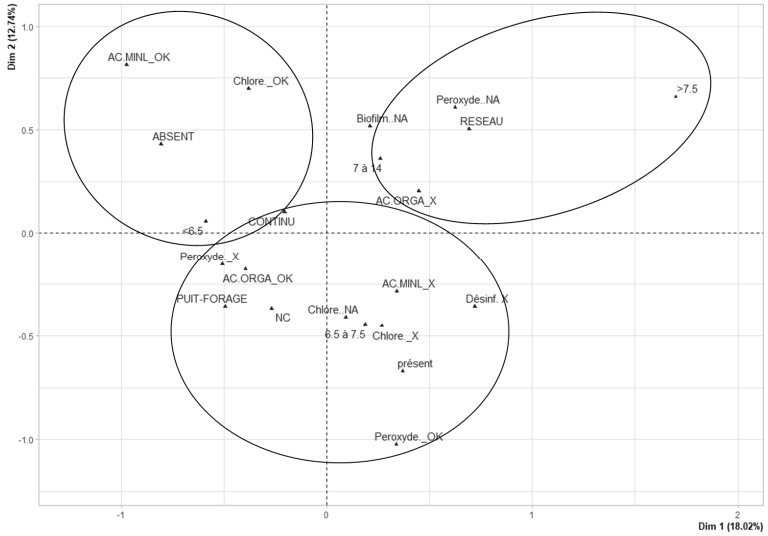
Tableau 2. Variables associées aux contaminants de l'eau de boisson (Mn et Fe) et à la présence de Chlore libre dans l'eau de boisson en bout de ligne d'abreuvement

Nombre d'élevages	**PUIT - FORAGE n = 45**	**EAU DE RESEAU n = 32**	**Total général N = 77**	**P-Value** (*Test*)
Mn en EXCES	20	1	21	**0.00**
Mn OK (0.05 mg/L)	**25**	**31**	**56**	*(Fischer)*
Fe en EXCES	7	2	9	**0.21**
Fe OK (< 0.2 mg/L)	**38**	**30**	68	*(Fischer)*
Chlore INSUFFISANT	34	23	57	**0.58**
Chlore OK (> 0.5 ppm)	**6**	**7**	**13**	*(Fischer)*
Pas de mesure	5	2	7	

Figure 1. Echelle d'évaluation du biofilm dans les lignes d'abreuvement (de 0 à 4)



Figure 2. Résultats de l'Analyse des Composantes Multiples (ACM) des variables de l'enquête



DEVELOPPEMENT D'ALGORITHMES DE TRACKING PAR IMAGERIE POUR LE RELEVE AUTOMATIQUE D'INDICATEURS DE BIEN-ETRE DES POULETS DE CHAIR EN ELEVAGE

Créach Pauline[1], Brunet Henry[1], Warin Laura[1], Elodie Guettier[2], Bouvarel Isabelle[1], Concordet Didier[3]

[1]ITAVI – 7, rue du Faubourg Poissonnière – 75009 Paris

[2]UMR BOA, INRAe, Université de Tours, 37 Nouzilly, France

[3] UMR INTHERES1436 INRAe-ENVT_23, chemin de Capelles, 31076 Toulouse

creach@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Garantir aux consommateurs un élevage de poulet de chair respectueux du bien-être animal est la base du métier d'éleveur, mais la société civile demande plus de transparence sur les pratiques d'élevage. Des méthodes d'évaluation du bien-être en élevage existent (ex : EBENE®) mais nécessitent du temps et la présence d'un observateur formé. L'analyse d'image est une opportunité pour réaliser des mesures en continu et en temps réel, sans nécessiter la présence d'un observateur dans le bâtiment (ie sans perturbation des animaux). L'objectif de cet article est de faire l'état des performances d'un système de tracking (suivi) par imagerie mis au point dans le cadre de plusieurs essais en conditions commerciales de poulets de chair. Ce système utilise l'intelligence artificielle et permettant le suivi individuel des poulets de chair en élevage commercial. Ces algorithmes permettent une quantification précise de l'activité des animaux. Il n'existe pas à ce jour de système similaire en développement ou commercialisé pour fonctionner en conditions d'élevage commercial de poulet de chair. Les caméras utilisées possèdent une définition de 2 et 3 Mpixels et ont été placées, pour la première caméra en conditions expérimentales avec deux densités d'animaux et pour la deuxième en élevage commercial de poulets de chair à différentes hauteurs (2,5m, 3,7m et 5m). La sensibilité de l'algorithme varie selon l'âge, la hauteur de la caméra et la densité de poulets au m². Par exemple, celle-ci passe de 99,2% à 29 jours d'âge et une densité de 10 poulets par m², à 98,1% à 20 animaux au m². Cette détection est fortement liée au nombre de pixels qui définissent le poulet. En effet, il augmente avec l'âge du poulet et avec la résolution des images de la caméra (nombre de pixels/m²). Une augmentation de la hauteur de la caméra ou une dégradation de la définition de l'image (nombre de pixels de l'image), diminue la résolution de l'image et la sensibilité. La qualité du tracking dépend très fortement de la capacité du système à détecter correctement les animaux, mais également de leur activité. *In fine*, les données générées par ces algorithmes serviront à la détection précoce de troubles de santé et de problèmes de bien-être des poulets et au calcul d'indicateurs de bien-être et de santé des poulets en élevage commercial.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF IMAGING TRACKING ALGORITHMS FOR THE AUTOMATIC RECORDING OF WELFARE INDICATORS OF BROILER ON FARM

Guaranteeing consumers broiler production that respects animal welfare is the basis of the farmer's profession, but civil society is demanding more transparency on farming practices. Welfare assessment methods exist (e.g. EBENE®) but require time and the presence of a trained observer. Image analysis is an opportunity to perform continuous and real-time measurements without the need for an observer in the building (i.e. without disturbing the animals). The objective of this paper is to review the performance of an image-based tracking system developed in the context of several trials in commercial broilers breeding conditions. It uses artificial intelligence for the individual monitoring of broilers in commercial farms. These algorithms allow precise quantification of animal activity. To date, there is no similar system under development or commercialised to operate under commercial broiler farming conditions. The cameras used have a resolution of 2 and 3 Mpixels and were placed, for the first camera used, in experimental conditions with 2 different stocking density of broilers and the second one in commercial broiler farms at different heights (2.5m, 3.7m and 5m). The sensitivity varies with age, camera height and chicken density per m². For example, this decreases from 99.2% at 29 days of age and a density of 10 chickens per m², to 98.1% at 20 animals per m². This detection is strongly linked to the number of pixels that define the broiler. Indeed, it increases with the age of broilers and with the resolution of the camera images (number of pixels/m²). An increase in the height of the camera or a degradation of the image definition (number of pixels in the image), decreases the image resolution and the sensitivity. The quality of the tracking depends very strongly on the ability of the system to detect the animals correctly, but also on their activity. Ultimately, the data generated by these algorithms will be used for the early detection of health and welfare problems in broilers and the calculation of welfare and health indicators in commercial broiler farm.

INTRODUCTION

La sensibilité croissante des citoyens à la façon dont sont élevés les animaux pousse la filière avicole à mettre en place des moyens pour rendre compte du bien-être et de la santé des volailles. Des méthodes existent pour évaluer le bien-être animal en élevage. Elles consistent en l'application de protocoles de mesure du bien-être, basés sur l'observation ponctuelle des animaux, par des personnes formées. Ainsi, de nombreux chercheurs s'intéressent à la possibilité d'utiliser les nouvelles technologies pour évaluer et rendre compte du bien-être des animaux en élevage. L'avantage de ces outils est de permettre des collectes de données en temps réel, sans causer de stress aux animaux et de manière plus objective et moins chronophage que les méthodes utilisées traditionnellement par un observateur humain (Créach et al. 2019). Il est déjà possible d'utiliser l'analyse d'image pour suivre l'évolution de l'activité des volailles et leur répartition dans le bâtiment, à l'échelle du groupe ou de l'individu. Une première approche est basée sur le pourcentage de pixels dont la couleur change au fil des images successives d'une vidéo. Elle permet d'évaluer l'activité du groupe de poulets (Fraess et al., 2016 ; M. Dawkins et al. 2021). Les données générées ont par exemple été corrélées avec le portage des poulets de la bactérie *Campylobacter* (Colles et al., 2016), l'apparition de pododermatites et de brûlures de tarses (Dawkins et al., 2017 ; Peña Fernández et al. 2018) et les scores de démarche des poulets (Silvera et al. 2017). Cette liste d'articles est loin d'être exhaustive. Une société a mis sur le marché la solution EyeNamic, basée sur cette approche (De Montis et al., 2013). L'inconvénient de cette méthode est qu'elle est basée sur l'analyse du changement de couleur des pixels et non sur l'analyse directe du comportement des animaux. Une seconde approche d'analyse d'images consiste à effectuer un suivi individuel des volailles. Certains chercheurs ont effectué un suivi individuel des animaux sur des groupes de 20 individus et pendant une période limitée (10 minutes), comme Collins en 2008. Une société française a récemment mis sur le marché une solution basée sur cette approche (Copeeks) mais aucune publication n'est disponible sur la méthodologie utilisée et les performances de la solution proposée. Les vidéos disponibles ne sont effectuées que sur de très courtes durées (30 secondes). L'approche avec portage de puces RFID par les animaux (Siegford et al., 2016 ; Sales et al. 2015 ; Feiyang et al. 2016 ; Li et al. 2020 ; Oliveira et al., 2019) permet, comme le tracking visuel, de collecter l'activité individuelle des animaux (vitesse, accélération, temps passé à proximité d'un équipement spécifique, etc.). Bien que la fiabilité de cette solution soit intéressante pour évaluer le bien-être, il n'est pas envisageable de l'utiliser en élevage commercial. Le retrait du dispositif demande de manipuler les animaux porteurs de puces RFID et ceci apparaît chronophage et laborieux pour un éleveur.

Les développements réalisés en analyse d'image pour évaluer l'activité des volailles montrent que les outils développés demeurent perfectibles et encore au stade de prototype. Bien que des dispositifs se développent, il n'existe pas aujourd'hui de système adapté aux densités d'élevage commercial et permettant la collecte d'informations individuelles pour le calcul d'indicateurs de bien-être des poulets. Les données individuelles collectées avec cet algorithme d'analyse pourraient servir au calcul d'indicateurs de bien-être et de santé des volailles. Ceci permettrait d'automatiser l'évaluation du bien-être des poulets, avec des informations plus régulières et plus fines que celles réalisées ponctuellement avec les méthodes classiques (comme la méthode EBENE® ; Bignon et al., 2017), afin de permettre des actions correctives par l'éleveur si besoin en cours de lot. L'objectif de cet article est de faire état des performances actuelles d'un nouveau système de tracking par imagerie, utilisant l'intelligence artificielle et permettant le suivi individuel des poulets de chair en élevage commercial. Ces algorithmes sont développés dans le cadre du projet EBroilerTrack, piloté par l'ITAVI avec INRAE.

1. MATERIELS ET METHODE

1.1. Algorithmes de détection et de tracking individuels des poulets développés

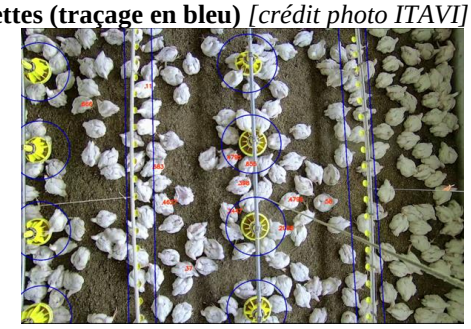
La méthode de tracking développée se compose de deux parties indépendantes. La première correspond à la détection individuelle de chaque poulet présent sous le champ de la caméra. Un réseau de neurones convolutifs permet cette détection. Il a été entraîné sur une base de données comprenant près de 1000 images, soit plus de 10000 poulets. Un tel modèle de détection permet d'être moins sensible aux conditions d'éclairement et variations de contraste et sépare plus facilement les poulets attroupés, comparé à une méthode de détection de vision par ordinateur traditionnelle (non basée sur de l'apprentissage) (O'Mahony N., et al., 2019). A l'issue de cette étape de détection, la position et la taille de chaque poulet est disponible (cf partie 1.3). La deuxième étape consiste à suivre chaque poulet détecté d'une image à l'autre (étape de tracking). Pour cela un identifiant unique est attribué à chaque animal dès son arrivée dans le champ de la caméra. A chaque instant et en se basant sur les positions passées de chaque poulet, l'algorithme est alors capable de prédire la position de chaque animal sur la prochaine image. Chaque poulet détecté sur cette nouvelle image se voit alors affecté l'identifiant du poulet dont la position estimée est la plus proche de lui.

1.2. Détermination de zones d'intérêt

Des zones d'intérêt sont déterminées dans le champ de vision de la caméra pour connaître la fréquentation individuelle de ces zones (nombre de passages et durée des passages dans la zone). La zone mangeoire est définie par un cercle autour de chaque mangeoire et la zone d'abreuvement par un rectangle autour des lignes

de pipettes (cf Figure 1). Le traçage des zones d'intérêt est réalisé une fois et manuellement. Des perspectives de développement sont envisagées pour détecter automatiquement les mangeoires et lignes de pipettes dans le champ de vision. Il est aussi possible de définir une zone autour d'un enrichissement pour en connaître sa fréquentation, de la même manière que pour les autres zones. Un rectangle est automatiquement tracé autour de chaque poulet identifié et la longueur ainsi que la largeur de chaque rectangle sont enregistrées. Les zones mangeoire et abreuvoir sont délimitées par 75% la longueur de ce rectangle au-dessus de chaque poulet. Ainsi, lorsque 75% de la longueur du rectangle est inclus dans la zone, le poulet est comptabilisé comme fréquentant la zone d'intérêt.

Figure 1 : Exemple de zonage mangeoires et pipettes (traçage en bleu) *[crédit photo ITAVI]*



1.3. Données individuelles générées par les algorithmes

Les données générées par ces algorithmes de tracking sont listées dans le Tableau 1 ci-dessous. La surface disponible par animal correspond à la surface des cellules de Voronoï ou la surface maximale du polygone sur la Figure 2, contenant un poulet de chair sans croiser une autre cellule. Un animal qui bouge ou ses voisins modifie sa cellule de Voronoï. Il existe une faible imprécision sur la détection qui crée un mouvement permanent faible de l'animal. Ainsi, un animal est considéré comme actif au-delà du seuil fixé sur des poulets immobiles au 95ème quantile des distances parcourues (plus d'imprécision sur les gros poulets). Il est considéré comme immobile lorsque sa distance est inférieure au 95ème quantile.

Tableau 1 : Liste des indicateurs générés par le tracking individuel des poulets par imagerie

Indicateurs générés	Unité
Distance parcourue	cm/poulet
Vitesse de déplacement	cm/s/poulet
Durée de la période d'activité	s/poulet
Temps passé dans zone d'intérêt	s/poulet
Temps passé sans bouger	s/poulet
Surface des poulets vue du dessus (=surface du rectangle représentant chaque poulet)	cm²
Surface disponible par animal (Figure 2)	cm²

Figure 2 : Exemple de cellules Voronoï, une cellule contenant un poulet de chair *[crédit photo ITAVI]*



1.4. Supports pour la mise au point des algorithmes de détection et de tracking

Différents contextes d'enregistrements et différents matériels ont permis le développement et l'entraînement des algorithmes d'analyse d'image :
1/ en conditions expérimentales à l'INRAe de Nouzilly : Deux parquets de poulets ROSS 308 ont été élevés à 2 densités différentes (10 et 20 poulets par m²) jusque 32 jours d'âge. Les 2 parquets étaient dans la même salle et mis en place le même jour. Les images ont été captées par 3 caméras ²de 2 Mpixels par parquet, placées en vue du dessus à 2,5m. Les animaux étaient parqués strictement sous le champ de la caméra. Ces enregistrements ont été utilisés pour l'analyse des performances du modèle de détection à différentes densités. 2/ en conditions commerciales en élevage de poulets ROSS 308 : Trois caméras de 3M pixels ont été installées à 3 hauteurs différentes (2,5m qui représente 8,3m² de surface au sol filmée, 3,7m qui représente 28m² de surface au sol filmée et 5m qui représente 48m² de surface au sol filmée) dans un bâtiment d'élevage de 2060m², avec xxxx poulets élevés jusqu'à 45 jours. Les animaux n'étaient pas strictement parqués sous le champ de la caméra et ont été mis en place à une densité de 19 poulets/m². Ces dernières captations ont permis l'analyse des performances du modèle de détection selon différentes résolutions d'animaux (ie hauteurs de caméra et tailles des poulets).

1.5. Evaluation du taux de détection et de la qualité du tracking

L'analyse des résultats se porte dans un premier temps sur les performances du modèle de détection et dans un deuxième temps sur les performances du tracking. Pour chaque cas particulier (hauteur de caméra spécifique, âge des poulets …) l'analyse est portée sur une dizaine d'images prises régulièrement avec un décalage temporel maximal au sein d'une même vidéo, d'une durée de 8 minutes à 1h43, dans laquelle les poulets étaient actifs. L'analyse porte ainsi sur plus de 1000 poulets cumulés. Sur chaque image est relevé manuellement le nombre de faux positifs et de poulets non détectés. Pour chaque vidéo sont calculés la sensibilité et le taux de fausses découvertes (FDR= False Discovery Rate). L'analyse portant sur le tracking est effectuée sur des vidéos de 100 secondes(soit 1000 images analysées). L'élément qui permet de mesurer la qualité du tracking est le nombre d'erreurs d'identification (EI). Un poulet perd son

identifiant ou l'échange avec un autre. Le nombre de vrais négatifs n'existe pas (pas de poulet détecté où il n'y en a pas) dans le domaine de l'analyse d'images pour la détection de poulets. Il n'est donc pas possible d'évaluer par exemple la spécificité des tests. L'objectif étant d'avoir un minimum de faux positifs et de faux négatifs tout en détectant un maximum d'animaux présents. Les tests de détection sont calculés avec les formules suivantes :

$$Sensibilité = \frac{VP}{VP + FN} = \frac{\#bonnes\ détections}{\#poulets}$$

$$FDR = \frac{FP}{VP + FP} = \frac{\#fausses\ détections}{\#détections}$$

VP : vrais positifs, FN : faux négatifs, FP : faux positifs

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances de détection en fonction de l'âge et de la hauteur de caméra

Les vidéos réalisées en élevage commercial ont servi pour l'obtention des résultats suivants.Le Tableau 2 présente les performances de détection pour un âge et une hauteur de caméra donnée. Avec une caméra à 2,5m, la sensibilité varie de 96,9% à J12 à 100% à J39. Lorsque la caméra est positionnée à 3,7m, ce pourcentage varie de 84,2% à J12 à 99,8% à J39. Enfin une caméra à 5m conduit à des sensibilités de 75,9% à J12 à 99,5% à J39. La sensibilité diminue avec la hauteur de la caméra mais augmente avec l'âge des poulets. En effet, le nombre de pixels/poulet (surface du poulet dans l'image) varie avec la hauteur de la caméra (résolution de l'image) et avec son âge. Cette surface varie de l'ordre de 2500 pixels/poulet pour une caméra à 5m de haut et des poulets de 12 jours d'âge à 17500 pixels pour des poulets de 39 jours et une caméra à 2,5m de haut. Le réseau de neurones qui permet la détection des poulets est sensible à la surface de chaque animal dans l'image. Un réseau de neurones convolutifs fonctionne par réductions successives de la taille de l'image analysée. Une image initiale de 1000*1000 pixels se retrouve réduite à une taille de 22*22 pixels. Ainsi, un poulet de 12 jours d'âge filmé par une caméra de 3Mpixels à 5 mètres de haut possède une surface inférieure à 1,5 pixels à la fin de l'analyse par le réseau de neurones. Plus la surface initiale de l'animal est faible, plus la probabilité de détection de cet animal par le réseau de neurones est faible. Augmenter la hauteur de la caméra afin d'accéder à un champ de vision plus large nécessite alors d'appliquer une transformation d'agrandissement de l'image afin que chaque animal soit suffisamment gros pour être détecté par le réseau de neurones. En contrepartie, l'analyse d'une image plus grande accroît le temps de calcul nécessaire. Augmenter la hauteur de la caméra d'un facteur *n* entraîne, en plus d'une dégradation de l'image, une augmentation de sa taille et du temps de calcul d'un facteur n^2. Un compromis doit être trouvé entre temps de calculs et taille du champ de la caméra souhaitée pour filmer un maximum d'animaux et traiter un maximum de durée de vidéo en un minimum de temps. Le Tableau 2 présente les sensibilités sur des images agrandies en fonction de la surface médiane initiale des poulets (en gras dans le Tableau 2, valeur en pixel). Il apparaît une limite entre 3500 et 4000 pixels par animal en dessous de laquelle le taux de détection chute fortement.

Tableau 2 : performances de détection de l'algorithme en fonction de la hauteur à 12 jours d'âge (en gras la surface médiane d'un poulet en pixels)**.**

Hauteur	sensibilité J12	sensibilité J26	sensibilité J39
2.5m	96,9% **4940**	99,2% **11470**	100% **17360**
3.7m	84,2% **3250**	98,6% **5830**	99,8% **8240**
5m	75,9% **2800**	98% **4090**	99,5% **5830**

2.2. Performances de détection en fonction de la densité animale au même âge (J29)

Les vidéos collectées en conditions expérimentales ont servi pour l'obtention des résultats suivants.Le Tableau 3 présente les performances de détection du réseau de neurones en fonction de 2 densités différentes, à 10 et 20 poulets au m². Les pourcentages de détection d'animaux dans le champ de vision diffèrent peu en fonction de la densité (+1% d'animaux détectés pour le parquet faible densité par rapport au parquet forte densité). Le taux de fausses découvertes (c'est-à-dire le nombre de fois ou le système détecte un animal alors qu'il n'y en a pas) est cependant plus élevé dans le parquet faible densité par rapport au parquet forte densité. Plus la concentration d'animaux est élevée, plus les risques qu'un animal en cache un autre augmentent. La sensibilité s'explique par ces occlusions. La variation du taux de fausses découvertes est dû au fait qu'un faux positif ne peut apparaître que dans une zone sans poulets. Plus il y a d'animaux, moins il y a de zones vides, ce qui laisse moins de place pour les faux positifs.

Tableau 3 : performances de détection de l'algorithme en fonction de la densité d'animaux au m² à J29

	10 ax/m²	20 ax/m²
Sensibilité	99,2%	98,1%
Taux de fausses découvertes	6,6%	4,8%

2.3. Performances du tracking

Les vidéos réalisées en élevage commercial ont servi pour l'obtention des résultats suivants. Les performances de tracking des animaux ont été calculées sur 1000 images successives. Le nombre d'erreurs d'identification est présenté par animal et par minute (10 images/seconde soit 600 images par minute analysées). Cette valeur traduit la fréquence moyenne d'apparition d'une erreur d'identification par minute. Les résultats sont présentés à la fois pour une captation

faite avec un niveau d'activité plus important d'une part sur des poulets de 26 jours, et d'autre part sur des poulets de 39 jours d'âge au repos. A 39 jours d'âge il n'y a presque aucune erreur de tracking/animal/minute (0,03). A 26 jours d'âge, moins d'une erreur par animal et par minute a été identifiée (0,67), ce qui équivaut à une erreur toutes les 1:30 minutes par animal dans le champ de vision. Les performances du tracking dépendent de la capacité du modèle à bien détecter tous les animaux, et de l'algorithme de tracking à bien identifier chaque animal. Plus l'activité des animaux est importante, plus il y a des difficultés à suivre les animaux. Des erreurs d'identification (un animal qui perd son identifiant) se produisent dans les zones de très forte densité (zone de repos près des murs principalement). C'est également dans ces zones que les faux négatifs apparaissent le plus souvent.

CONCLUSION

La qualité de détection dépend de nombreux paramètres qui sont : la définition de la caméra, la taille et l'âge de l'animal, la hauteur de la caméra, la densité et l'activité des animaux. La qualité du suivi dépend très fortement de la capacité du système à bien détecter les animaux, mais également de leur activité. La densité d'animaux au m² ne semble pas un frein pour la détection des animaux lorsque les animaux sont répartis de manière homogène, aux densités de 10 et 20 poulets/m² testés. Les algorithmes de détection développés pour le suivi des poulets de chair en élevage commercial présentent de très bonnes performances (>99% d'animaux détectés à partir de J26 avec une caméra à 2,5m). Cependant, les performances de tracking sont moins bonnes dans les zones de plus fortes densités (près des murs particulièrement) et pourront être améliorée avec un enrichissement de la base de données d'images dans ces zones spécifiquement. Les publications sur des développements similaires ne permettent pas une comparaison stricte avec les résultats présentés dans cet article puisque les essais sont uniquement réalisés sur de petits groupes d'animaux, où 100% des volailles sont détectés et les objectifs et méthodes pour évaluer la qualité et de la détection et du tracking ne sont pas les mêmes. La prochaine étape est de déterminer des seuils d'alerte pour la détection précoce de désordres de santé et de bien-être des animaux. Des travaux sont aussi menés pour prédire l'expression de comportements spécifiques, tels que l'exploration et le toilettage, avec les données d'activité issues du tracking.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été conduite dans le cadre du projet Cas Dar recherche technologique 2019 EBroilerTrack, piloté par l'ITAVI en partenariat avec l'INRAe. Elle a bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture et du CIPC. Les auteurs remercient l'UE PEAT (INRAe Nouzilly), les éleveurs ayant participé à l'étude et les partenaires du projet pour leur implication.

BIBLIOGRAPHIE

Bignon L., Mika A., Mindus C., Litt J., Souchet C., Bonnaud V., Picchiottino C., Warin L., Bouvarel I., 2017. Une méthode pratique et partagée d'évaluation du bien-être en filières avicole et cunicole : EBENE. 12e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 05 et 06 avril 2017

Colles, Frances M., Russell J. Cain, Thomas Nickson, Adrian L. Smith, Stephen J. Roberts, Martin C. J. Maiden, Daniel Lunn, et Marian Stamp Dawkins. 2016. Monitoring Chicken Flock Behaviour Provides Early Warning of Infection by Human Pathogen Campylobacter. *Proceedings. Biological Sciences* 283 (1822): 20152323.

Collins, 2008. Non-intrusive tracking of commercial broiler chickens in situ at different stocking densities. *Applied Animal Behaviour Science*. volume 112. Issues 1-2, p 94-105.

Créach P., Travel A., Bouvarel I. ; 2019. L'image et le son pour automatiser le relevé d'indicateurs de bien-être et de santé des volailles. Revue TeMa n°51.

Dawkins, M. S., S. J. Roberts, R. J. Cain, T. Nickson, et C. A. Donnelly. 2017. Early Warning of Footpad Dermatitis and Hockburn in Broiler Chicken Flocks Using Optical Flow, Bodyweight and Water Consumption. *The Veterinary Record* 180 (20): 499.

Dawkins, MS, L Wang, S.A. Ellwood, S.J. Roberts, et S Gebhardt-Henrich. 2021. Optical Flow, Behaviour and Broiler Chicken Welfare in the UK and Switzerland. *Applied Animal Behaviour Science* 234 (janvier): 105180.

De Montis.A, Pinna.A, Barra.M et Vranken.E, 2013. Analysis of poultry eating and drinking behavior by eYeNamic. *Journal of agricultural engineering* ; volume XLIV (s2):e33

Feiyang, Zhang, Hu Yueming, Chen Liancheng, Guo Lihong, Duan Wenjie, et Wang Lu. 2016. Monitoring Behavior of Poultry Based on RFID Radio Frequency Network. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 9 (6): 139-47.

Fraess, Garrett A., Clover J. Bench, et Keith B. Tierney. 2016. Automated Behavioural Response Assessment to a Feeding Event in Two Heritage Chicken Breeds. *Applied Animal Behaviour Science* 179 (juin): 74-81.

Li, N., Z. Ren, D. Li, et L. Zeng. 2020. Automated techniques for monitoring the behaviour and welfare of broilers and laying hens: towards the goal of precision livestock farming. *Animal* 14 (3): 617-25.

O'Mahony, N., Campbell, S., Carvalho, A., Harapanahalli, S., Hernandez, G. V., Krpalkova, L., ... & Walsh, J. (2019, April). Deep learning vs. traditional computer vision. In Science and Information Conference (pp. 128-144). Springer, Cham.

Oliveira, J. L., H. Xin, et H. Wu. 2019. Impact of Feeder Space on Laying Hen Feeding Behavior and Production Performance in Enriched Colony Housing. *Animal* 13 (2): 374-83.

Peña Fernández, Alberto, Tomas Norton, Emanuela Tullo, Tom van Hertem, Ali Youssef, Vasileios Exadaktylos, Erik Vranken, Marcella Guarino, et Daniel Berckmans. 2018. Real-Time Monitoring of Broiler Flock's Welfare Status Using Camera-Based Technology. *Biosystems Engineering*, Advances in the Engineering of Sensor-based Monitoring and Management Systems for Precision Livestock Farming, 173 (septembre): 103-14.

Sales, G. T., A. R. Green, R. S. Gates, T. M. Brown-Brandl, et R. A. Eigenberg. 2015. Quantifying Detection Performance of a Passive Low-Frequency RFID System in an Environmental Preference Chamber for Laying Hens. *Computers and Electronics in Agriculture* 114 (juin): 261-68.

Siegford, Janice M., John Berezowski, Subir K. Biswas, Courtney L. Daigle, Sabine G. Gebhardt-Henrich, Carlos E. Hernandez, Stefan Thurner, et Michael J. Toscano. 2016. Assessing Activity and Location of Individual Laying Hens in Large Groups Using Modern Technology. *Animals* 6 (2): 10.

Silvera, A. M., T. G. Knowles, A. Butterworth, D. Berckmans, E. Vranken, et H. J. Blokhuis. 2017. Lameness Assessment with Automatic Monitoring of Activity in Commercial Broiler Flocks. *Poultry Science* 96 (7): 2013-17.

EFFET D'UN ADDITIF COMMERCIAL SUR LA QUALITE DES LITIERES DES VOLAILLES, LES PODODERMATITES ET LA FIXATION DE L'AZOTE

Joguet Nicolas[1], Poujol Margot[1] , Laza Knoer Anca Lucia[1], Alleno Christophe[2] , Dumargue Philippe[1]

[1]TIMAC AGRO-CENTRE MONDIAL DE L'INNOVATION ROULLIER - 18 avenue Franklin Roosevelt - 35400 SAINT MALO,
[2]ZOOTESTS - 5 rue Gabriel Calloet-Kerbrat - 22440 PLOUFRAGAN
nicolas.joguet@roullier.com

RÉSUMÉ

La gestion de l'environnement d'élevage des poulets en bâtiment peut avoir des conséquences importantes sur la santé et le bien-être des animaux, notamment au niveau de leurs pattes. La présente étude vise à évaluer l'effet d'un additif litière sur les pododermatites, les brûlures de tarse, la qualité de la litière et la fixation de l'azote. Cet additif est composé d'une formulation spécifique d'asséchant, de matières acidifiantes et d'huiles essentielles. 480 poulets de chair Ross 308 ont été élevés pendant 42 jours et répartis aléatoirement en deux traitements avec 30 oiseaux par parquet (8 réplicas par traitement). La qualité de la litière et sa température (indicateur de l'activité bactérienne et facteur influençant le dégagement d'ammoniac) ont été évaluées à 6 âges (jour 7, 13, 21, 28, 35 et 42). Les pododermatites et les brûlures de tarse ont été évaluées aux jours 21 et 42. Des échantillons de litière ont été prélevés aux jours 21 et 42 pour analyser le taux d'azote fixé. Les brûlures du tarse ont été réduites significativement de 41% au jour 21 (p_{Khi^2}<0,001). Les pododermatites de type lésion sévère (score 2) ont également significativement diminué de 30% au jour 21 (p_{Khi^2}<0,001). La qualité de la litière a été améliorée en présence de l'additif (p>0,200), et sa température est significativement plus basse au jour 42 (p<0,002) (23.49◦C contre 24.37◦C pour le témoin). Enfin, le taux d'azote dans la litière est augmenté de 10% (p<0,007) ce qui indiquerait que l'azote reste sous forme stable au sein de la litière (moins d'émanations gazeuses sources d'inconfort pour les poulets et les éleveurs). En conclusion, l'utilisation de l'additif litière améliore certains indicateurs de bien-être des poulets (diminution des pododermatites et des brûlures du tarse, amélioration de la qualité globale de la litière) et permet de fixer l'azote sous une forme non volatile.

ABSTRACT

Effect of a litter conditioner on broiler pododermatitis, litter quality and nitrogen rejection

The management of the broiler farms can have a significant impact on the health and welfare of animals, including their feet.The present study aimed to evaluate the effect of a litter conditioner, on broiler welfare, by analyzing the score of pododermatitis, hock burns, quality of litter and nitrogen rejection. This additive is composed of a specific formulation of drying, acidifying materials and essential oils. A total of 480 Ross 308 broiler chickens were raised until 42 days old and randomly distributed in 2 treatments with 30 birds per pen (8 replicates/treatment). Litter quality and temperature (indicator of bacterial activity and factor influencing ammonia release) were evaluated at 6 different ages (Day 7, Day 13, Day 21, Day 28, Day 35 and Day 42). Pododermatitis and hock burns were scored at Day 21 and Day 42. Litter samples were collected at Day 21 and Day 42 and analyzed to measure nitrogen content in the litter. Hock burns and pododermatitis were statistically reduced at 21 days (p_{Khi^2}< 0.001) by 41% and by 30% on score 2 (severe injury) respectively. Litter was statistically cooler at 42 days (p< 0.002), decreasing the litter temperature from 24.37°C to 23.49°C. Nitrogen content in the litter was increased by 10% (p< 0.007) and may mean less rejection of nitrogen in the air, without causing discomfort (gas emanation or corrosive surface) to the animal. In conclusion, the addition of litter conditioner improved broiler some indicator of welfare by decreasing pododermatitis and hock burns and quality of litter by reducing litter temperature and nitrogen rejection.

INTRODUCTION

L'élevage de poulet de chair est en constante croissance depuis deux décennies et le poulet est la viande la plus consommée au niveau mondial (OCDE, 2021). Les pattes de poulet ont acquis une valeur marchande sur certains marchés spécialisés et dans le même temps, l'état sanitaire des pattes, résultant de plusieurs paramètres d'élevage, est devenu un bon indicateur global du bien-être animal et donc un facteur d'ajustement de l'élevage aviaire et de la rémunération des éleveurs. Ce marqueur est devenu important notamment à cause de la pression sociétale de plus en plus forte sur les pratiques d'élevage, dans la logique du Welfare Quality Project (projet soutenu par l'Union Européenne qui a pour but d'intégrer le bien-être des animaux d'élevage au sein des filières de production (Mounier et al., 2010). Les pododermatites, ou dermatites de contacts, sont les principales lésions atteignant les pattes de poulets de chair en élevage. Ces pathologies se présentent comme des érosions brunes ou noires, de sévérités variables. Il peut s'agir de simples décolorations de la peau ou d'hyperkératoses, ou plus grave, d'inflammations aigues avec nécrose de l'épiderme. Toutes zones du corps, non protégées par les plumes et en contact avec le sol, peuvent être touchées. Les facteurs influençant l'apparition des pododermatites sont nombreux, mais les principaux sont liés à la qualité de la litière (Shepherd et al., 2010). Il ressort de la littérature que l'humidité et la nature de la litière sont primordiales pour la gestion des pododermatites en élevages (de Jong et al., 2012). Les oiseaux atteints trop sévèrement vont avoir du mal à se déplacer ce qui va engendrer une diminution de la prise alimentaire, une baisse de l'indice de consommation, donc une perte financière pour l'éleveur (Meluzzy et al., 2008). De plus, les lésions au niveau de la patte peuvent servir de porte d'entrée à des infections bactériennes graves, comme les infections au *Staphylococcus aureus* ou par d'autres micro-organismes présents dans la litière (Hester, 1994). La litière a pour rôle principal d'absorber l'humidité et de diluer les matières fécales afin que la couche superficielle, en contact avec les oiseaux, reste sèche et friable. De plus, la litière est aussi le siège de réactions biochimiques pouvant entraîner une gêne pour les animaux. En effet, c'est dans la litière que le processus d'hydrolyse de l'acide urique en urée et de l'urée en ammoniac se produit grâce aux bactéries. L'ammoniac est une molécule dont la volatilité importante, en moyenne et forte concentration, va entraîner une détérioration de l'ambiance du bâtiment d'élevage. Et par conséquent, peut entraîner des pathologies respiratoires pour les animaux mais également pour l'éleveur (Naseem et al., 2018). Le suivi de la température de la litière est un indicateur de cette activité bactérienne de dégradation de la matière (Knizatova et al. 2010). L'objectif de cette étude est de déterminer l'influence d'un additif commercial ajouté à la litière pendant l'élevage des poulets sur certains marqueurs importants du bien-être animal que sont les pododermatites, les brûlures du tarse et sur la qualité de la litière.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Gestion des poulets

Un total de 480 poulets de chair Ross 308 a été élevé pendant 42 jours et réparti aléatoirement en deux traitements avec 30 oiseaux par parquet (8 réplicas par traitement, pour une densité de 13 poulet/m²). Les critères zootechniques (consommation, prise de poids, indice de consommation) ont été mesurés à 6 âges différents (jour 7, jour 13, jour 21, jour 28, jour 35 et jour 42). Les oiseaux ont été nourris *ad libitum*, suivant le programme suivant : starter (jour 0-13), croissance (jour 13-28) finition (jour 28-42). L'éclairage a été géré comme suit : du jour 0 au jour 4, 24h de lumière par jour, avec une intensité lumineuse de 100%. Du jour 5 au jour 42 : 18h de lumière par jour, avec une intensité lumineuse de 30 à 40%. Plusieurs observateurs ont effectué les différentes notations qualitatives (pododermatites, brûlure du tarse, notation litière)

1.2. Gestion et analyse de la litière

Le matériau utilisé comme litière est la sciure de bois. La même quantité a été utilisée pour toutes les répétitions, 8kg par parquet de 30 oiseaux. L'additif est l'Actisan 360, qui est composé d'une base asséchante, de matière acidifiante et d'huiles essentielles. Il a été rajouté selon les préconisations du fabricant (100 g/m²/semaine), aux jours 7, 13, 21 28 et 35. L'aspect visuel de la litière a été évalué au jour 7, 13, 21, 28, 35, et 42, sur tous les lots, dans les aires de nourrissage et d'abreuvoir (avant ajout de l'additif). Le score de la litière est obtenu suivant la procédure mise au point par l'Institut Technique de l'élevage Avicole (ITAVI), selon les critères suivants : 1 : litière sèche et friable, 2 : litière friable et légèrement humide, 3 : friable mais agglomérée par endroit, 4 : agglomérée mais avec litière friable en dessous ; 5 : complétement agglomérée ou complétement humide. Les prélèvements de litière ont été effectués pour chaque groupe dans 2 zones de couchage des animaux (à mi-distance entre l'abreuvement et l'alimentation). La température de la litière a été mesurée les jours 13, 21, 28, 35, et 42. Enfin un dosage de l'azote a été effectué aux jours 21 et 42 du test.

1.2. Analyse des pododermatites et brûlures du tarse

Les pododermatites ont été évaluées aux jours 21 et 42. les brûlures du tarse ont été évaluées aux jours 21. L'évaluation des brûlures du tarse au jour 42 n'a pas

pu être effectué suite à un problème technique. Les observations ont été effectuées sur tous les animaux. Les pododermatites ont été classées selon trois niveaux : la classe 0 correspond à une patte sans lésion apparente. La classe 1 correspond à une lésion légère (superficielle et peu étendue) et la classe 2 correspond à une lésion sévère (étendue et profonde). Le même classement a été effectué avec les brûlures du tarse avec le score 0 correspondant à un tarse sans lésion, le score 1 à une lésion légère (visible mais peu étendue) et le score 2 à une lésion sévère (très visible, profonde et étendue).

1.3 Analyse statistique

L'unité expérimentale est un parquet de 30 animaux. L'unité statistique est un poulet au sein du parquet. Les poussins de 1 jour ont été distribué de façon aléatoire dans les différentes répétitions. Le risque alpha a été choisi de façon classique à 5%. Le logiciel SAS a été utilisé pour effectuer les tests statistiques. Pour les mesures de score litière, température litière et dosage azote, les effets fixes sont testés à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA). Les données qualitatives (score de pododermatites et de brulures du tarse) ont été analysées en utilisant le test statistique Khi².

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La qualité de la litière est améliorée avec l'additif : diminution de 6% en moyenne du score de qualité de litière (score moyen de 2,71 pour le témoin et de 2,53 pour les parquets avec additif, au jour 42) (p.value : 0,200), et baisse de la température (environ 1°C de baisse : 24,37 °C pour la température moyenne de la modalité témoin, et 23,49 °C pour la température moyenne de la modalité avec additif, à jour 42), p.value = 0,002). L'abaissement de la température est un indicateur de la diminution de l'activité bactérienne au sein de la litière (hydrolyse enzymatique des protéines, de l'urée, et de l'acide urique en ammoniac) (Coufal et al. 2006). De plus, une baisse de la température diminue les dégagements d'ammoniac selon les travaux de Knizatova et al. en 2010. Ces résultats sont cohérents avec le taux d'azote piégé dans la litière qui est significativement plus important dans le lot traité, avec + 4% à 21 jours et + 10% à 42 jours (p.value : 0,007). Les travaux de la littérature (Wlazlo et al. 2016) montrent des résultats très similaires de captage de l'azote par l'ajout d'additif. Ces résultats peuvent laisser penser que les émanations d'azote sous forme gaz sont diminuées, ainsi que l'inconfort, voir les problèmes de santé respiratoire pour les animaux et les éleveurs. Au jour 21, le pourcentage de pododermatites de score 2 (lésion sévère) est 30% moins élevé que pour le témoin sans additif (p_{Khi^2} <0,001). De la même façon, au jour 21, les brûlures du tarse de score 1 (lésion légère) sont 41% moins importantes dans le lot en présence d'additif litière, par rapport à un témoin non traité (p_{Khi^2} <0,001). Les brûlures de score 2 (lésion sévère) ont quasiment disparu dans le lot traité. Ces résultats obtenus sur les pododermatites et brûlures du tarse sont cohérents avec ceux de la littérature : par exemple les travaux sur les amendements de litières de Toppel (Toppel et al. 2019) ou de Nagaraj (Nagaraj et al. 2007) montrent des évolutions de pododermatites similaires avec les résultats de l'étude. Au jour 42, les différences sont moins marquées (p_{Khi^2} = 0,061pour le score 0) mais la proportion de pododermatites score 0 est toujours supérieure chez la modalité traitée (28% contre 26,5 % chez le témoin) et garde une tendance améliorative pour le score 1 (39,9% pour la modalité traité contre 41,9% pour le témoin).

CONCLUSION

Ce travail effectué sur des poulets de chair montre que l'utilisation d'un additif asséchant dans la litière permet d'améliorer la qualité de cette dernière, de diminuer sa température (signe d'une activité biochimique diminuée) et d'augmenter l'adsorption ou la complexation de l'azote via des mécanismes physico-chimiques spécifiques. Ces premiers résultats seront complétés par une étude plus vaste dans des conditions d'élevages commerciales et représentatives. La baisse significative des pododermatites, la diminution des brûlures du tarse légères et la quasi disparition des lésions sévères sont des résultats positifs allant dans le sens d'une amélioration des marqueurs du bien-être animal. En perspectives, les avantages procurés par le traitement peuvent se transformer en plus-value financière, avec un maintien des performances de croissances des animaux, une diminution significative des traitements médicaux, voire des frais vétérinaires, une meilleure valorisation du fumier via l'enrichissement en azote et une meilleure rémunération à l'abattage tout en restant en accord avec les attentes sociétales en terme de bien-être animal et de durabilité des élevages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Coufal C.D., Chavez C., Niemeyer P.R., Carey J.B. 2006. In : Poult.Sci., (85), 384-391
De Jong I.C., van Hard J., Gunnink H., Hindle V.A., Lourens A., 2012. In : Poult.Sci., (91), 1569-1574
Hester, P. Y, 1994. In : Poult. Sci., (73), 904–915
Knizatova M., Mihina S., Broucek J., Karandusovska I., Machuhova J. 2010. In : Czech.J.Anim.Sci., (55), 337-345
Meluzzi, A., Fabbri C., Folegatti E., Sirri F., 2008. In : Br.Poult.Sci., (49), 257–264
Mounier L., de Boyer des Roches A., Veissier I., 2010. In : Point Vétérinaire (Inrae Edit.) Wolters Kluwer, France, pp 53-60
Nagaraj M., Wilson C.A.P., Saenmahayak B., Hess J.B., Bilgili S.F., 2007. In : J.Appl.Poult.Res., (16), 255-261
Naseem S., King A, J, . 2018. In : Environ.Sci.Pollut.Res.Int., (25), 15269-15293
OCDE (2021), CONSOMMATION DE VIANDE (INDICATEUR). DOI: 10.1787/EDBCE270-FR (CONSULTE LE 16 NOVEMBRE 2021)
Shepherd E. M., Fairchild B.D, 2010. In : Poult.Sci., (89), 2043-2051
Toppel K., Kaufmann F., Schön H., Gauly M., Andersson R., 2019. In : Poult.Sci., (98), 1181-1189
Wlaslo L., Nowakowick-Debek B., Kapica J., Kwiecien M., Pawlak H., 2016. In : J.Environ.Manage., (183), 722-725

Figure 1. Répartition des scores de pododermatites au jour 21 : comparaison témoin et additif

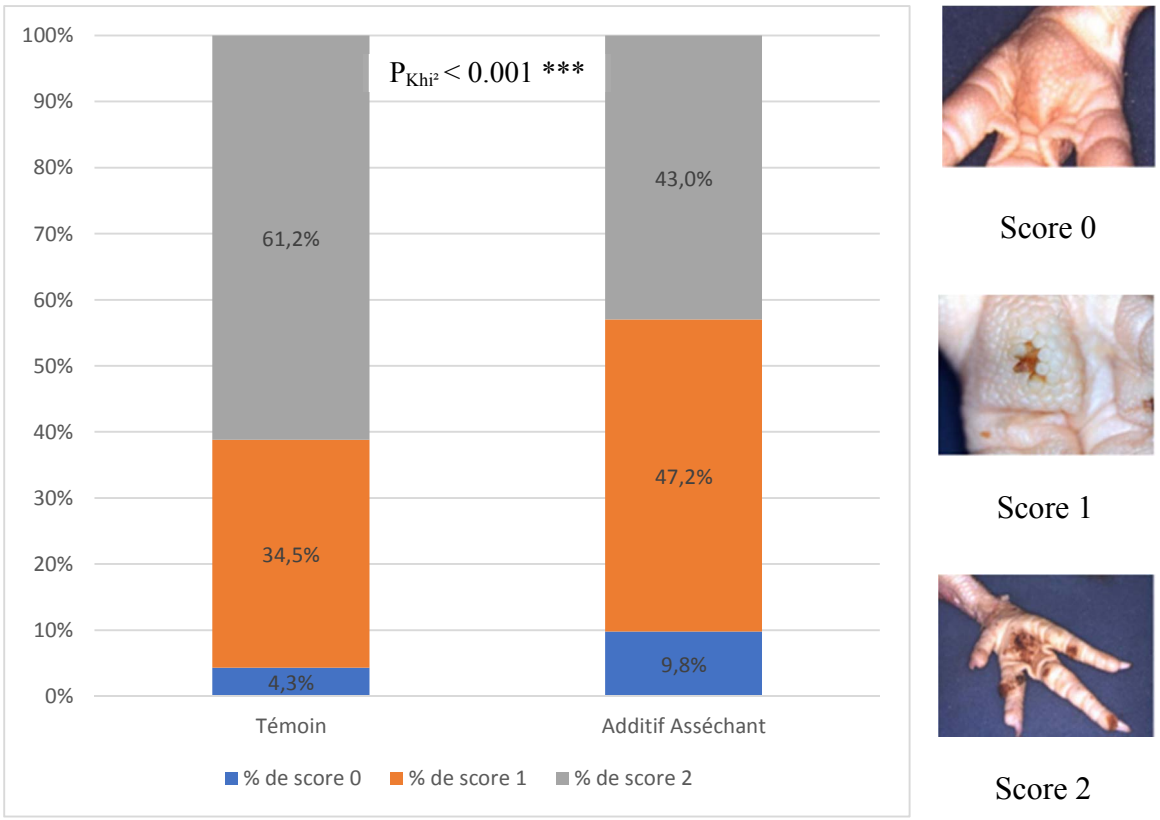


Figure 2. Répartition des scores de brûlure du tarse au jour 21 : comparaison témoin et additif

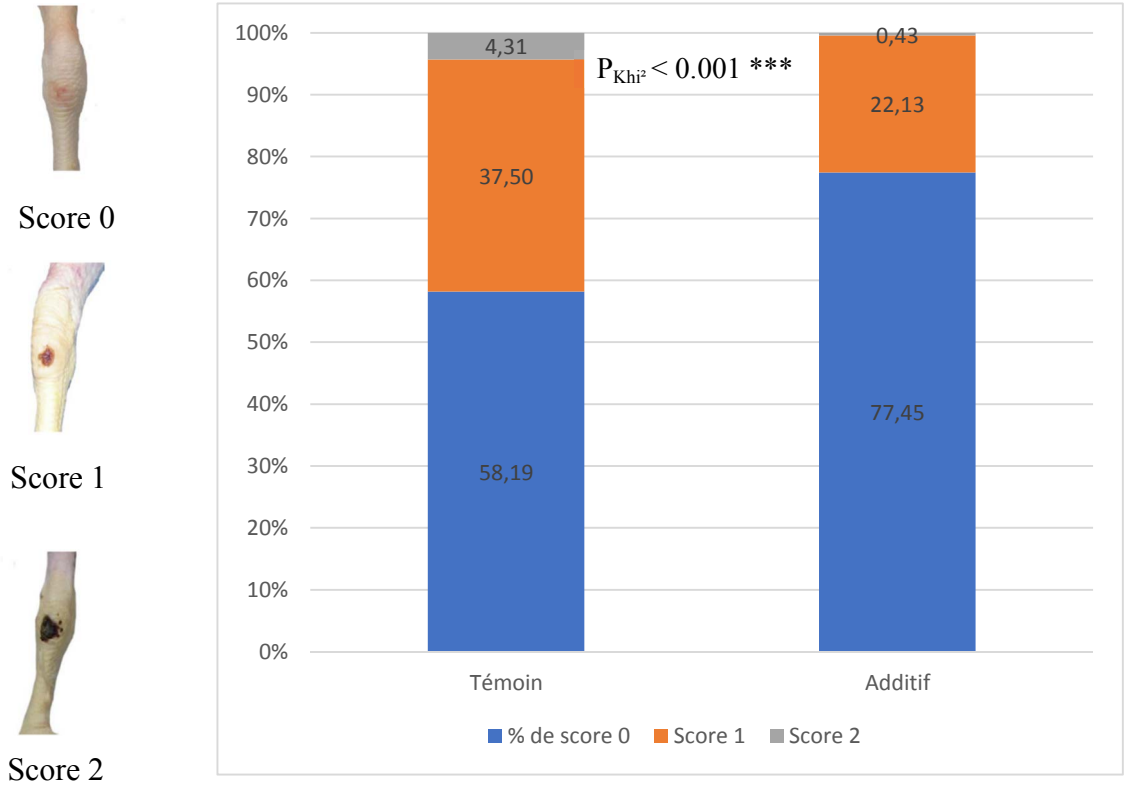


Figure 3. Température moyenne de la litière : comparaison témoin et additif (jour 42)

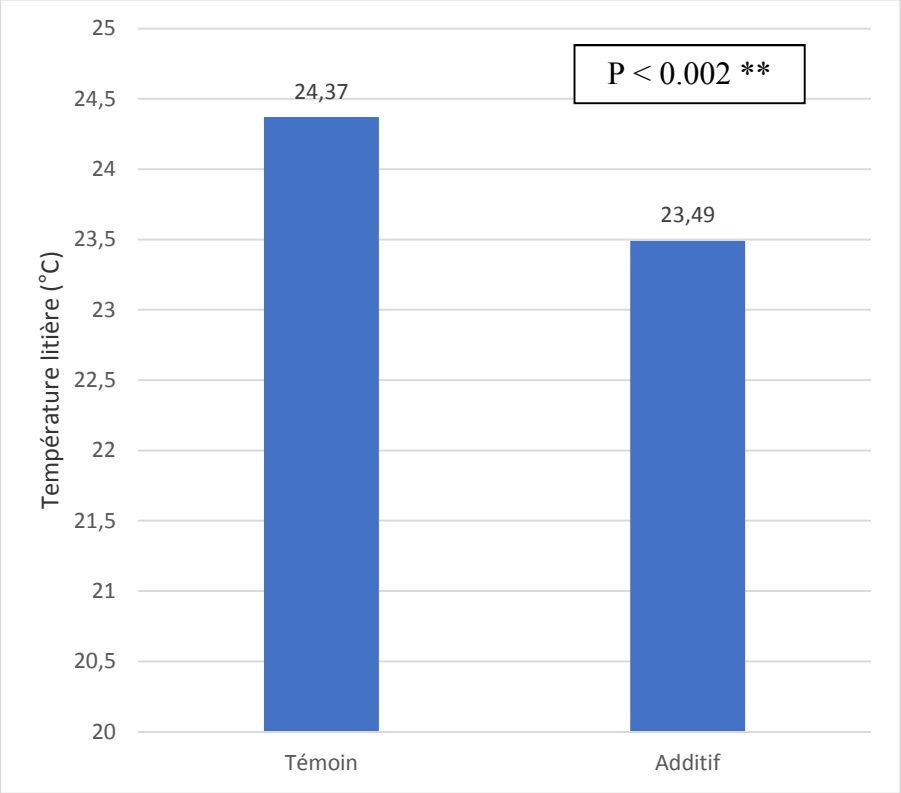
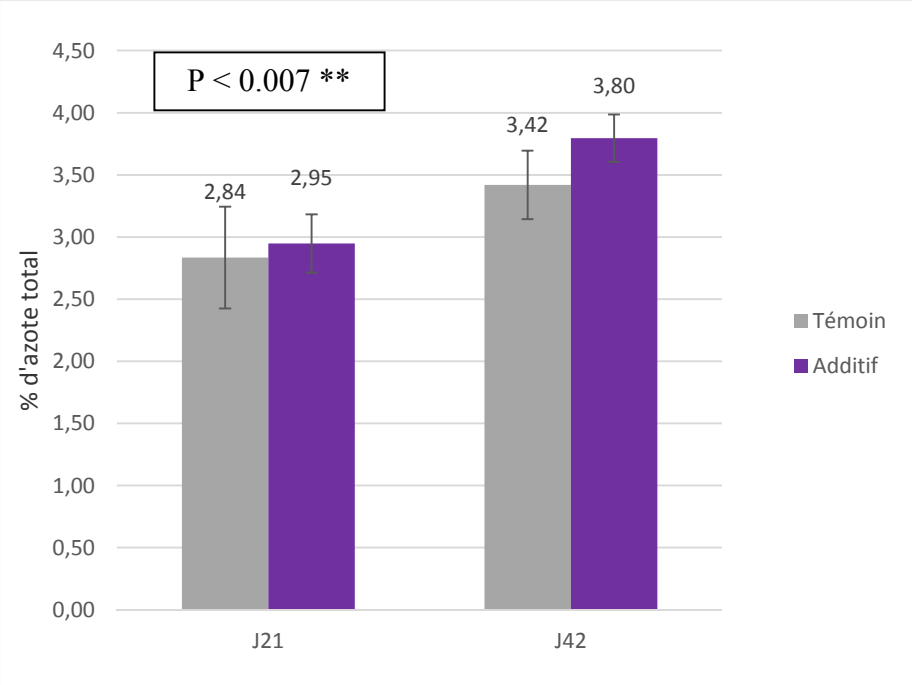


Figure 4 Taux d'azote dans les litières : comparaison entre témoin et additif (jour 21 et jour 42)



IMPACT DES NIVEAUX PLASMATIQUES DE 25-OH-D3 VIA DES CURES DANS L'EAU SUR LES TROUBLES LOCOMOTEURS DES POULETS.

Guilloton Chloé[1], Dronneau Anouk[1], Boulard Christophe[2], Thoby Jean-Marc [2], Ethève Stéphane[3], Fauqueux Zoé[1], Langlois Aude[1], Gigaud Vérane[2]

[1]Chêne Vert Conseil Vétérinaire -ZA de Bronut – 56500 Moréac,
[2]DSM - Nutritional Products France, Tour Nova, 71 boulevard National, 92 250 La Garenne-Colombes
[3]DSM Nutritional Products Ltd., DNP R&D Solution Center, Wurmisweg 576, CH-4303 Kaiseraugst, Suisse
Verane.gigaud@dsm.com

RÉSUMÉ

Les troubles locomoteurs sont des pathologies récurrentes en élevage de poulets de chair qui conduisent à des baisses de performances mais également à un moindre bien-être animal. Une mauvaise absorption et fixation du calcium (Ca) est souvent à l'origine de l'apparition de ces troubles. Le métabolisme osseux est régulé par l'homéostasie du Ca, lui-même sous le contrôle de la vitamine D3. Or, les niveaux de vitamine D3 dans l'aliment peuvent être limités ou mal assimilés et ne pas permettre une minéralisation optimale. Afin de réduire ces troubles, il est possible de renforcer les apports en vitamine D3 via un complément nutritionnel dans l'eau contenant de la 25-OH-D3, forme biodisponible de la vitamine D3. L'objectif de cette étude était de mettre en relation les niveaux plasmatiques de 25-OH-D3 et les troubles locomoteurs chez le poulet de chair avec ou sans cure de la forme biodisponible diluée dans l'eau. 11 bâtiments d'élevage ont été suivis en région Bretagne, 6 sans cure et 5 avec 3 cures, la première de 3 à 6 j, la seconde de 10 à 13j et la dernière de 20 à 22j.

Lors de la période à risque pour les boiteries (35-40j), la mesure du Gait score a été réalisée pour évaluer le pourcentage de troubles locomoteurs, ainsi que le poids vif. Des prélèvements sanguins ont été réalisés afin de quantifier les niveaux de 25-OH-D3. Sur ces mêmes poulets, les tibias gauches et droits ont été prélevés pour analyses de la résistance à la rupture, la dureté et l'évaluation des cartilages de croissance. Cette étude a permis de mettre en évidence, lorsque les animaux recevaient les 3 cures, une augmentation significative des niveaux circulants de 25-OH-D3 associée à une réduction significative du Gait score. Des niveaux circulants augmentés de 25-OH-D3 au sein d'un lot s'accompagnent d'une amélioration significative du poids vif, de la résistance à la rupture et de la dureté des tibias, mais également de modifications de la composition des cartilages. Enfin, il est constaté une baisse significative des lésions avec l'application des 3 cures.

ABSTRACT

Impact of 25-OH-D3 via a nutritional supplement in water on leg disorders

Broiler's leg disorders are recurrent pathologies which reduced performance and decreased animal welfare. Poor absorption and uptake of calcium (Ca) is often the source of these disorders. Bone metabolism is regulated by Ca homeostasis, itself under the control of vitamin D3. However, the levels of vitamin D3 in feed can be limited or poorly assimilated and may not allow an optimal mineralization. To reduce these disorders, it is possible to increase the intake of vitamin D3 via a nutritional supplement in water containing 25-OH-D3, the bioavailable form of vitamin D3. The objective of this study was to relate the plasma levels of 25-OH-D3 to locomotor disorders in broilers with or without the bioavailable form diluted in water. 11 farms were monitored in the Brittany region, 6 without treatment and 5 with 3 treatments, the first at 3-6 days, the second at 10-13 days and the last at 20-22 days. During the sensitive period for lameness (35-40 days), the Gait score was measured to assess the percentage of locomotor disorders in 100 chickens per flock, as well as the live weight. Blood samples were taken from 45 chickens per batch divided into 3 levels of lameness: non-lame, light lame, and heavy lame to quantify the 25-OH-D3 levels. Left and right tibiae were also removed to analyze bone strength, stiffness, and assessment of growth cartilage. This study demonstrates, when the animals received the 3 cures, a significant increase in the circulating levels of 25-OH-D3 associated with a significant reduction in the Gait score. Increased circulating levels of 25-OH-D3 within a batch are accompanied by significant improvement in live weight, bone strength and stiffness, as well as changes in cartilage composition. Finally, a significant decrease in lesions is observed with the application of the 3 cures.

INTRODUCTION

Les troubles locomoteurs sont des pathologies récurrentes en élevage de poulets de chair qui conduisent à des baisses de performances mais également à un moindre bien-être animal (Rath et al. 2000; Danbury et al. 2000; McGeown et al. 1999).
L'origine des boiteries peut être non infectieuse : nutritionnelle, intestinale (malabsorption) ou encore mécanique (Angel 2007). La croissance rapide des poulets est le principal facteur de risque lorsque l'origine est non infectieuse (Julian 2005). Une mauvaise absorption et fixation du calcium (Ca) est souvent à l'origine de l'apparition de ces troubles. Le métabolisme osseux est régulé par l'homéostasie du Ca, lui-même sous le contrôle de la vitamine D3. Or, les niveaux de vitamine D3 dans l'aliment peuvent être limités ou mal assimilés et ne pas permettre une minéralisation optimale notamment les premières semaines d'élevage (Whitehead et al. 2004), favorisant la colonisation de l'os par des bactéries opportunistes et engendrant des troubles plus sévères (Matthieu PINSON, Xavier CHATENET, Xavier MALHER 2015).

Afin de réduire ces troubles, il est possible de renforcer les apports en vitamine D3 via un complément nutritionnel dans l'eau de boisson contenant de la 25-OH-D3, forme biodisponible de la vitamine D3.
Le statut en vitamine D3, mesuré par les niveaux circulants de 25-OH-D3, a fait l'objet de nombreuses études qui ont démontré ses multiples bénéfices chez l'homme comme chez l'animal (Goodgame et al. 2011 ; Carlberg 2014; Ceglia 2008; DeLuca 2014).

L'objectif de cette étude était de mettre en relation les niveaux plasmatiques de 25-OH-D3 et les troubles locomoteurs chez le poulet de chair avec ou sans cure de la forme biodisponible diluée dans l'eau.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et traitements expérimentaux

Onze bâtiments d'élevage de poulets de chair non sexés de souche Ross 308, provenant de la même organisation de production et alimentés par la même usine d'aliment, ont été suivis en région Bretagne.
Les surfaces des bâtiments étaient comprises entre 931 et 1620 m^2 avec une densité variant de 18,5 à 21,5 poulets/m^2.
Six bâtiments représentaient le groupe témoin et n'ont reçu dans l'eau aucune supplémentation contenant de la vitamine D3. Les 5 bâtiments essais ont réalisé 3 cures de Provitos® (vitamine D3, 25-OH-D3, vit C, vitamine B6 et dextrose monohydrate). Les cures ont été administrées pour la première de 3 à 6j, puis de 10 à 13j, et enfin de 20 à 22j pour la dernière. Ces périodes ont été choisies en fonction du développement osseux des animaux (Sanchez-Rodriguez et al. 2019; Williams et al. 2000), mais également de l'absorption de la vitamine D3 et de la demi-vie de la 25-OH-D3 plasmatique qui est comprise entre 15 et 20 jours (Jones et al. 2014; Leeson, Summers 2001).

1.2. Gait Score

A 40j, la mesure du Gait score a été réalisée pour évaluer le pourcentage de troubles locomoteurs selon les traitements.
La méthode choisie consiste à prélever 25 poulets au hasard en évitant les coins, 4 fois à chaque extrémité du bâtiment, puis relâcher les poulets hors du cercle afin qu'ils rejoignent librement leurs congénères (Kestin et al. 1992; Knowles et al. 2008).
L'évaluation du score de boiterie a ainsi été réalisée individuellement sur 100 poulets par lot selon la grille suivante :

-0 : pas de trouble observable,
-1 : Léger défaut de déplacement, légère claudication en ne sachant pas déterminer le côté atteint,
-2 : Léger défaut, le côté concerné est identifiable et la foulée est raccourcie
-3 : Poulet qui se couche facilement si pas de stimulation (Debout environ 15 secondes)
-4 : Poulet qui ne bouge que s'il est stimulé (Debout environ 5 secondes)
-5 : Poulet qui ne bouge pas, malgré des stimulations

1.3. Prélèvements et mesures

Dans chaque bâtiment, 45 poulets mâles de 40j répartis en 3 niveaux de boiterie, [non boiteux, boiteux légers (score de boiterie entre 2 et 4) et boiteux sévères (score de boiterie de 5)], ont été transportés jusqu'au laboratoire afin de réaliser les différents prélèvements.
Des prélèvements sanguins au niveau de la veine alaire à l'aide d'une aiguille 18G ont immédiatement été réalisés dans des tubes héparinés de 5mL, centrifugés dans l'heure, puis le plasma a été déposé dans des tubes et congelé afin de quantifier les niveaux de 25-hydroxycholécalciférol (25-OH-D3) plasmatique. Cette dernière a été déterminée en utilisant une méthode analytique validée basée sur UHPLC-MSMS (DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland).
Pour évaluer les performances de la méthode, des échantillons standard et de contrôle qualité dédiés ont été analysés avec les échantillons inconnus pour garantir l'exactitude et la précision de la méthode.

Les poulets ont été étourdis par électronarcose, euthanasiés par dislocation cervicale puis pesés.
Pour chaque poulet, les différentes lésions macroscopiques ont été relevées (péricardite, périhépatite, pododermatites...), les foies ont été pesés et le degré de stéatose hépatique enregistré. Le degré de nécrose des têtes fémorales a également été noté.

Des analyses bactériologiques ont été effectuées sur 5 poulets par groupe et par bâtiment pour les groupes boiteux légers et boiteux sévères.

L'ensemble de ces mesures, observations et prélèvements ont permis de classer chaque animal en 3 catégories : sans lésions, lésions infectieuses et lésions non infectieuses.

1.4. Prélèvements et mesures sur les tibias

Sur ces mêmes poulets, les tibias gauches et droits ont été prélevés.
Les mesures de l'épaisseur du cartilage de conjugaison, de la zone de prolifération et de la zone de minéralisation ont été effectuées sur les tibio-tarses droits découpés par un scalpel et mesurés avec un pied à coulisse digital (modèle Fischer Darex).
La prévalence et le degré de dyschondroplasie tibiale ont été notés.

Les tibias gauches ont quant à eux été envoyés au laboratoire de Zootest (22 440 Ploufragan) afin de mesurer leur poids, la résistance à la rupture et la dureté à l'aide d'un MTS Synergie 200, vitesse de compression 30 mm/mn.

1.5. Analyses statistiques

Les résultats ont été analysés avec le logiciel XLSAT (version 2021 2.1). Les analyses de variances ont été réalisées par des tests non-paramétriques de Kruskal Wallis afin de tester l'effet du nombre de cures et l'effet « groupe de boiteries ». Des ANOVA ont été réalisées pour tester les interactions de ces deux variables explicatives. Des tests de Khi2 suivis de tests de Fisher ont été réalisés pour les comparaisons de classes et des corrélations de Pearson pour étudier les effets entre les niveaux circulants de 25-OH-D3 et les différentes variables.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La supplémentation administrée aux lots « Essai » a permis d'augmenter significativement les niveaux circulants de 25-OH-D3 et ce indépendamment du groupe de boiterie (Tableau 1). Ces résultats sont cohérents avec de nombreux travaux indiquant qu'un apport de 25-OH-D3 dans l'alimentation animale augmente les niveaux plasmatiques (Yarger et al. 1995; Lauridsen et al. 2010; Vignale et al. 2015). Cette élévation s'accompagne d'une réduction des troubles locomoteurs mesurés avec le Gait Score. En effet, les lots « Essai » ont obtenu un Gait score significativement plus faible (Figure 1), l'analyse par classe indiquant que cette amélioration de prévalence de troubles locomoteurs est liée à une réduction significative du score 5, numérique du score 4 et une augmentation du score 3 (Tableau 2). Sakkas et al., (2019) ont également démontré la relation entre les niveaux circulant de 25-OH-D3 et une amélioration du Gait score (Sakkas et al. 2019). Plus récemment, Zhang et al., (2021) démontrent également une amélioration du Gait Score chez des poulets supplémentés en 25-OH-D3 (Zhang et al. 2021). En humaine, il est aussi largement admis et reconnu que des niveaux plus importants de 25-OH-D3 circulant permettent de réduire le risque relatif de fractures mais également d'autres pathologies (Bischoff-Ferrari, 2008).

Aucune différence significative n'a été observée sur la force à la rupture ou encore la dureté en fonction du nombre de cures (Tableau 1). Néanmoins il existe une différence numérique de 5 N/mm entre les deux traitements et en faveur des lots « Essais ». Cette différence est confirmée par des coefficients de corrélations hautement significatifs entre les niveaux circulant de 25-OH-D3 et la force à la rupture ($R=0.348$, $P<0.0001$) ou la dureté ($R=0.453$, $P<0.0001$). Ces résultats sont cohérents avec les travaux de Sakkas et al. (2019), Zhang et al. (2021) ou encore Saunders-Blades (2008) et Withehead et al. (2004) qui indiquent tous une amélioration de la force à la rupture ou de la dureté des os.

L'analyse des différentes zones de l'épiphyse des tibias montre que, quel que soit le traitement, l'épaisseur du cartilage de croissance et de la zone de prolifération sont identiques. Au contraire, l'épaisseur de la zone de minéralisation (ou zone hypertrophique) diminue chez les animaux ayant reçu trois cures de 25-OH-D3 ($P< 0.0001$), ce qui entraîne une diminution de l'épaisseur totale de la zone mesurée chez les lots « Essai » ($P< 0.0001$). La zone hypertrophique ou de minéralisation est la région où siège la différenciation des chondrocytes aviaires (Farquharson, Jefferies 2000). D'après Farquharson et al., (1993) cette différenciation est sous l'influence de la vitamine D3. Ainsi la diminution de l'épaisseur de cette zone liée à la complémentation en 25-OH-D3 pourrait s'expliquer par une maturation plus avancée des chondrocytes.

L'apparition des lésions est également significativement moins fréquente pour les lots de poulets ayant reçu 3 cures (Tableau 1). L'analyse par classe indique que ce sont les lésions de type 2, infectieuses, qui sont significativement ($P<0.05$) diminuées. Cette observation conforte l'hypothèse qu'une bonne minéralisation limite dans le tissu osseux l'accès aux pathogènes et leurs conséquences délétères (Pinson et al., 2015).

Enfin, ces résultats sont accompagnés par des corrélations positives et significatives entre les niveaux circulant de 25-OH-D3 et le poids vif des poulets [Figure 2 ($R=0.61$, $P<0.0001$)], ce qui était déjà confirmé dans les travaux de Zhang et al (2021), ainsi que Goodgame et al (2011), avec un effet dose réponse (Goodgame et al. 2011; Zhang et al. 2021).

CONCLUSION

Cette étude a tout d'abord permis de mettre à nouveau en évidence les corrélations entre la qualité osseuse et les troubles locomoteurs. Une supplémentation de la forme biodisponible de vitamine D3, la 25-OH-D3, via des cures administrées la première semaine d'élevage de 3 à 6 j, puis de 10 à 13j et enfin de 20 à 22 j a permis d'augmenter les niveaux circulants de 25-OH-D3 à 40j, ce qui s'est accompagné d'une réduction des troubles locomoteurs.

Dans cette étude, de nombreuses corrélations positives et hautement significatives entre les niveaux circulants de 25-OH-D3 et les paramètres osseux ont été mises en évidence, indiquant le bénéfice d'assurer des niveaux circulants plus importants pour la filière poulet de chair, les souches actuelles à croissance rapide ayant une sensibilité accrue au niveau locomoteur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Angel, R., 2007. J. Appl. Poult. Res. Vol. 16, n 1, pp. 138□149.
Bischoff-Ferrari HA, 2008. Adv Exp Med Biol. 624:55-71.
Carlberg, C., 2014. Front. Phys. Vol. 5, pp. 335.
Ceglia, L., 2008. Mol. Asp. Med. Vol. 29, n° 6, pp. 407□414.
Danbury, T. C., Weeks, C. A., Waterman-Pearson, A. E., Kestin, S. C. et Chambers, J. P., 2000. Vet. Rec.Vol. 146, n° 11, pp. 307□311.
Deluca, H. F., 2014. J. Anim. Sci. Vol. 92, n° 3, pp. 917□929.
Farquharson, C. et Jefferies, D., 2000. Poult. Sci. Vol. 79, n°7, pp. 994□1004.
Farquharson, C., Whitehead, C.C., Rennie, J.S. et Loveridge, N., 1993. J. Bone Min. Res. Vol. 8, n 9, p. 1081□1088.
Goodgame, S.D., Mussini, F.J., Lu, C., Bradley, C.D., Watkins, S.E. et Waldroup, P.W., 2011. Int. J. Poult. Sci. Vol. 10, n° 4, pp. 295□299.
Jones, K. S., Assar, S., Harnpanich, D., Bouillon, R., Lambrechts, D., Prentice, A. et Schoenmakers, I., 2014. J. Clin. Endo. Met. Vol. 99, n 9, pp. 3373□3381.
Julian, R. J., 2005 – A review. Vet Journal. Vol. 169, n° 3, pp. 350□369.
Kember, N. F., Kirkwood, J. K., Duignan, P. J., Godfrey, D. et Spratt, D. J., 1990. Res.Vet. Sci. Vol. 49, n° 3, pp. 283□288.
Kestin, S. C., Knowles, T. G., Tinch, A. E. et Gregory, N. G., 1992. Vet. Rec. Vol. 131, n° 9, pp. 190□194.
Knowles, T. G., Kestin, S. C., Haslam, S. M., Brown, S. N., Green, L. E., Butterworth, A, Pope, S. J., Pfeiffer, D et Nicol, C J., 2008. PLOS ONE. Vol. 3, n 2, pp. e1545.
Lauridsen, C., Halekoh, U., Larsen, T. et Jensen, S. K., 2010. J. Anim. Sci. Vol. 88, n° 1, pp. 202□213.
Leeson, S., et Summers, J. D., 2001. University Books. ISBN 978-0-9695600-4-3.
Pinson M., Chatenet X., et Malher X., 2015. 11e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras. Tours. 26 mars 2015.
Mcgeown, D., Danbury, T. C, Waterman-Pearson, A. E. et Kestin, S. C., 1999. Vet. Rec. 1999. Vol. 144, n 24, pp. 668□671.
Rath, N. C., Huff, G. R., Huff, W. E. et Balog, J. M., 2000. Poult. Sci. Vol. 79, n° 7, pp. 1024□1032.
Sakkas, P., Oikeh, I., Blake, D. P., Smith, S. et Kyriazakis, I. 2019. Brit. J. Nut. 2019. Vol. 122, n 6, pp. 676□688.
Sanchez-Rodriguez, E., Benavides-Reyes, C., Torres, C., Dominguez-Gasca, N., Garcia-Ruiz, A. I, Gonzalez-Lopez, S et Rodriguez-Navarro, A. B. 2019. Poult. Sci. 2019. Vol. 98, n° 11, pp. 5215□5225.
Vignale, K., Greene, E. S, Caldas, J. V, England, J. A, Boonsinchai, N., Sodsee, P., Pollock, E. D, Dridi, S. et Coon, C. N, 2015. J. Nut. 2015. Vol. 145, n° 5, pp. 855□863.
Whitehead, C. C., Mccormack, H. A., Mcteir, L. et Fleming, R. H., 2004. Brit. Poult. Sci. 2004. Vol. 45, n 3, pp. 425□436.
Williams, B., Solomon, S., Waddington, D., Thorp, B. et Farquharson, C., 2000. Brit. Poult. Sci. Vol. 41, n 2, pp. 141□149.
Yarger, J. G., Saunders, C. A., Mcnaughton, J. L., Quarles, C. L., Hollis, B. W. et Gray, R. W., 1995. Poult. Sci. Vol. 74, n 7, pp. 1159□1167.
Zhang, H., Majdeddin, M., Gaublomme, D., Taminiau, B., Boone, M., Elewaut, D., Daube, G., Josipovic, I., Zhang, K., et Michiels, J. 2021. J. Anim. Sci.Biot. Vol. 12, n 1, pp. 104.

Tableau 1 – Analyse des caractéristiques du tibia en fonction du nombre de cures et du niveau de boiteries.

Paramètres testés	Nombre de cures			Niveau de boiterie				
	0 N=264	3 N=223	P-value	Non boiteux N=161	Léger N=164	Sévère N=162	P-value	Cure*boiterie
25-OH-D3 plasm. (ng/mL)	16.04±6.05	18.47±6.12	<0.0001	20.20±0.38[a]	19.70±0.37[a]	11.85±0.38[b]	<0.0001	NS
Poids Tibia (g)	12.60±1.1	12.25±1.1	0.034	13.52[a]	13.44[a]	10.30[b]	<0.0001	NS
Force Fracture (N)	288.5±6.4	292.90±7	NS	336.6±8.2a	323.5±8.2a	211.9±8.3b	<0.0001	NS
Dureté (N/mm)	171.2±2.3	176.5±2.5	NS	197.4±2.9a	185.7±2.9b	138.6±2.9c	<0.0001	NS
Taille globale des zones (mm)	7.6±0.09	7.05±0.09	<0.0001	7.90±0.1a	7.78±0.1a	6.28±0.1b	<0.0001	NS
Cartilage de conjugaison (mm)	3.02±0.6	3.00±0.6	NS	3.08±0.5a	3.12±0.5a	2.82±0.6b	<0.0001	NS
Zone de prolifération (mm)	1.59±0.8	1.58±0.6	NS	1.80±0.5a	1.85±0.7a	1.09±0.6b	<0.0001	NS
Zone de min.(mm)	2.99±0.9	2.49±0.8	<0.0001	3.04±0.7a	2.85±0.7a	2.340±1.0b	<0.0001	NS
Lésions	1.00±0.05	0.81±0.06	0.017	NM*	0.67±0.6	1.15±0.56	<0.0001	NS

NM* : non mesuré, les non-boiteux n'étaient pas concernés par cette mesure

Tableau 2. Analyse par classe du Gait score selon le nombre de cures

Gait score	Nombre de cure		
	0	3	P-value Test exact Fisher
0	28,33%	30,80%	NS
1	28,00%	26,80%	NS
2	22,50%	19,40%	NS
3	11,17%	15,80%	0.026
4	7,33%	6,40%	NS
5	2,67%	0,80%	0.023
P value Khi2		0.036	

Figure 1. Moyenne du Gait score selon le nombre de cures

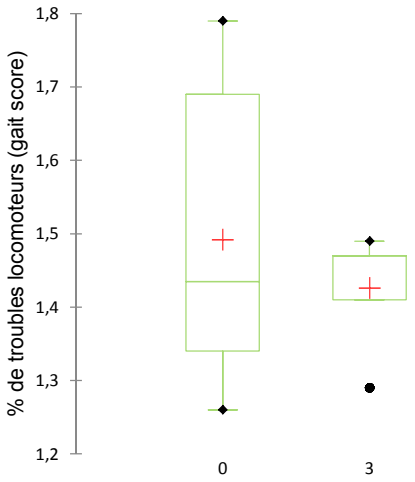
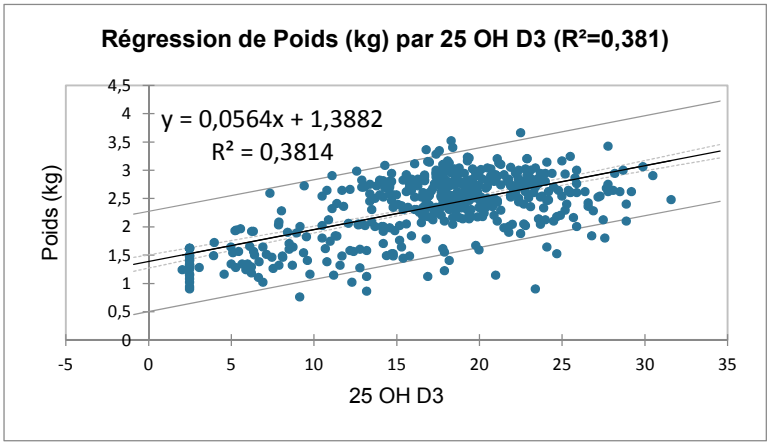


Figure 2 : Corrélation entre le poids corporel et le taux plasmatique de 25-OH-D3 (ng/mL)



AMELIORER LA TENUE ET LA ROBUSTESSE DES PATTES DU POULET DE CHAIR PAR LA SELECTION

Duggan Brendan[1], Lesuisse Jens[1], Swalander Magnus[1]

[1] *Aviagen Ltd, Newbridge, EH28 8SZ, United Kingdom*
trolland@aviagen.com

RESUME

En volaille de chair, la réalisation de programme d'amélioration génétique sur de larges effectifs offre des possibilités importantes de progrès sur plusieurs caractéristiques afférentes au bien-être. Au cours des dernières décennies et au sein des installations de recherche d'Aviagen, de nombreuses données ont été enregistrées sur diverses caractéristiques ayant trait à la santé et au bien-être des lignées pédigrées. Une sélection équilibrée a été entreprise en intégrant la santé et la robustesse des pattes en même temps que les caractéristiques de production tels que l'indice, le rendement filet mais aussi la production d'œufs et l'éclosabilité. Les héritabilités établies pour les critères de robustesse des pattes étaient faibles à modérées, ce qui suggère que même si la majorité des variations observées dans les populations sont dues à des facteurs de conduite d'élevage, des progrès peuvent encore être réalisés grâce à la sélection. Ce progrès continu est clairement démontré, à la fois à partir des données historiques capturées au sein du programme de sélection mais également à partir des données recueillies sur des élevages commerciaux. Nous nous attendons à ce que cette approche équilibrée de la sélection continue d'améliorer la tenue sur pattes du poulet de chair dans les années à venir.

ABSTRACT
DELIVERING BROILER LEG HEALTH & ROBUSTNESS THROUGH SELECTION
Large populations of pedigreed chicken pedigree lines offer possibilities for significant genetic improvement across a range of important welfare traits. Over many decades, extensive data has been recorded on various health and welfare traits from pedigreed chicken lines within the Aviagen breeding programme. A balanced selection is undertaken by incorporating these leg health and robustness traits along with production traits such as FCR and breast yield and reproductive traits such and egg output and hatchability. Heritabilities for leg health traits were low to moderate, suggesting that while the majority of variation seen in populations is due to management factors, progress can still be made on these traits through breeding. This continuous progress is clearly demonstrated, both from historic data of pedigreed populations within the breeding programme and also from data collected from commercial broilers. We expect this balanced breeding approach to continue to yield improvements in leg health for the modern broiler in the coming years.

INTRODUCTION

Le rôle des sociétés de sélection de poulets de chair est de fournir une génétique de poulets de chair en mesure de s'adapter à des environnements et des méthodes d'élevage très variés. La sélection de lignées pour leur robustesse et leur santé est d'une importance majeure pour assurer à la fois le bien-être des poulets de chair et améliorer la durabilité des systèmes de production.

Les programmes d'aujourd'hui intègrent un large éventail de caractères de santé et de bien-être ainsi que des caractéristiques de production de viande et d'efficacité dans le but d'une sélection équilibrée et d'une approche durable de nos systèmes de production. Ainsi plus d'un tiers de l'effort de sélection est en lien direct avec l'amélioration du bien-être.

L'objectif de cet article est d'établir les progrès observés sur les lignées pures avec des méthodes traditionnelles de sélection s'appuyant sur un large éventail de mesures toutes relatives à la tenue sur pattes et de présenter la réponse associée observée sur le terrain pour les populations commerciales de poulets de chair.

Une partie importante du travail d'amélioration continue consiste à rapprocher les progrès mesurés sur les lignées pures de ceux réalisés sur le terrain au niveau des produits commerciaux. Pour ce faire, on effectue le même type de mesures sur les oiseaux commerciaux que celles qui sont généralement appliquées au niveau sélection. Les résultats de ces évaluations sont ici présentés.

MATERIEL ET METHODES

Aviagen UK approvisionne toute l'Europe et plusieurs autres pays du monde en génétique de volaille de chair. Les données individuelles des animaux sous sélection au sein du programme d'Aviagen UK sont systématiquement enregistrées. Tous les oiseaux ont éclos dans le même couvoir. Le sexe de chaque oiseau a été déterminé et un code-barres unique lui a été attribué. Les animaux ont été élevés à une densité similaire aux élevages commerciaux. Ils ont été mis en place par origine génétique, ont été nourris et abreuvés ad libitum, avec des régimes alimentaires conformes aux recommandations nutritionnelles de la Ross 308. La litière a été constituée de copeaux et régulièrement rechargée tout au long de la période de croissance en cas de besoin. Les poulets de chair ont été élevés conformément aux instructions décrites dans le guide d'élevage du poulet de chair Ross. Les données obtenues sur le produit terminal Ross 308, sont issues d'élevages « test » dans lesquels les poulets Ross 308 ont été élevés dans de grandes salles d'élevage aussi proches que possible des conditions commerciales.

Au sein des fermes de sélection, les données phénotypiques sont régulièrement collectées sur de grandes populations de lignées pures par une équipe d'évaluateurs formés. Comme certaines caractéristiques à mesurer sont subjectives, la répétabilité de la mesure pour chaque caractéristique est régulièrement contrôlée pour chaque évaluateur afin de garantir la cohérence et la précision de la mesure. Les données sont collectées à l'aide de logiciels propriétaires. Le pedigree (filiation) est déterminé par génomique, à l'aide d'un échantillon de sang prélevé sur chaque individu.

Les principales méthodes de sélection pour la bonne tenue sur pattes sont : 1) l'évaluation de la démarche (gait score). Le gait score est évalué sur une échelle de 8 niveaux de 10 à 45. Un gait score de 10 représente un animal avec une bonne démarche. Un gait score de 40 représente un animal avec une mauvaise démarche. Un gait score de 45 est attribué à un animal ne pouvant se déplacer pour cause de problème locomoteur. 2) les défauts de pattes. Ils sont notés sur une base binaire (présence/absence) grâce à une inspection minutieuse de l'animal. La personne note toute déformation valgus/varus des tarses et tibias 3) la mesure de l'incidence de la dyschondroplasie tibiale (DT) par des techniques d'imagerie radiographique. Elle est notée sur une base binaire (présence/absence). Les données sont collectées sur tous les sujets pedigrees, à des âges ou des poids fixes, ce qui permet de constituer des bases de données très importantes pour ainsi évaluer de façon plus précise et plus fiable le bien-être, et mieux estimer les paramètres génétiques.

Les paramètres génétiques (héritabilités et corrélations génétiques) ont été estimés par un modèle linéaire multi-caractères en utilisant le logiciel VCE.

Ces méthodes de jugement de la bonne tenue sur pattes sont aussi appliquées régulièrement dans des essais commerciaux afin de mesurer l'efficacité de la sélection.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les caractéristiques relatives à la robustesse et à la tenue sur pattes présentent généralement des niveaux d'héritabilité faibles à modérés. Cela signifie que seule une partie de la variation que nous observons est due à la variabilité génétique. Par exemple, en analysant les données phénotypiques et pédigrées, sur 4 années, de trois différentes lignées pures du programme de sélection Aviagen, l'héritabilité des défauts de pattes varie de 0,02 à 0,05 ; l'héritabilité de la DT varie de 0,15 à 0,32 ; l'héritabilité de la note de démarche varie de 0,10 à 0,26.

Les corrélations génétiques entre ces trois critères sont généralement faibles. Entre les défauts de pattes et l'incidence DT, elle est de -0,08. Entre les défauts de pattes et le gait score, elle est de 0,05, et enfin entre DT et gait score, elle est de -0,11. Ces corrélations faibles à modérées suggèrent que des gait scores faibles sont causés par de multiples facteurs, autres que les défauts de pattes ou de DT.

Les corrélations génétiques des caractéristiques d'efficacité avec ceux de productivité sont faibles à modérées, ce qui indique que des progrès significatifs peuvent être réalisés tant pour la tenue sur patte que pour la productivité lorsqu'une approche de sélection équilibrée est appliquée.

En effet, les résultats obtenus sur les lignées à l'origine du poulet de chair Ross 308 montrent une augmentation très significative du pourcentage d'absence de défauts de pattes de 1% chaque année au cours des dernières décennies et la sélection contre l'incidence de la DT depuis les années 1990 a entraîné une réduction de l'incidence de la DT de 25-30% à moins de 5%. La prévalence de ces défauts tend toujours à réduire. Parallèlement à cela l'efficacité alimentaire s'améliore de 20 à 25 gr d'aliment par kg de poids vif chaque année, ce qui est essentiel à la durabilité environnementale et économique des systèmes de production.

Sur le croisement final des poulets de chair Ross 308, des progrès substantiels sont évidents de 2016 à 2019, avec un pourcentage d'oiseaux sans défaut de patte qui augmente de 1,6 % par an, et une amélioration des scores de démarche de 5,5 % par an (figure 1).

CONCLUSION

En résumé, il est très important de prendre en compte les caractéristiques de robustesse et de tenue sur pattes dans les programmes de sélection des poulets de chair, au même titre que les autres caractères. Les résultats présentés dans cet article prouvent qu'une approche équilibrée de la sélection peut à la fois être bénéfique au bien-être des animaux et à la durabilité des systèmes de production. D'autres études du même ordre seront menées au cours des prochaines années et feront l'objet de publication dès que les résultats seront disponibles.

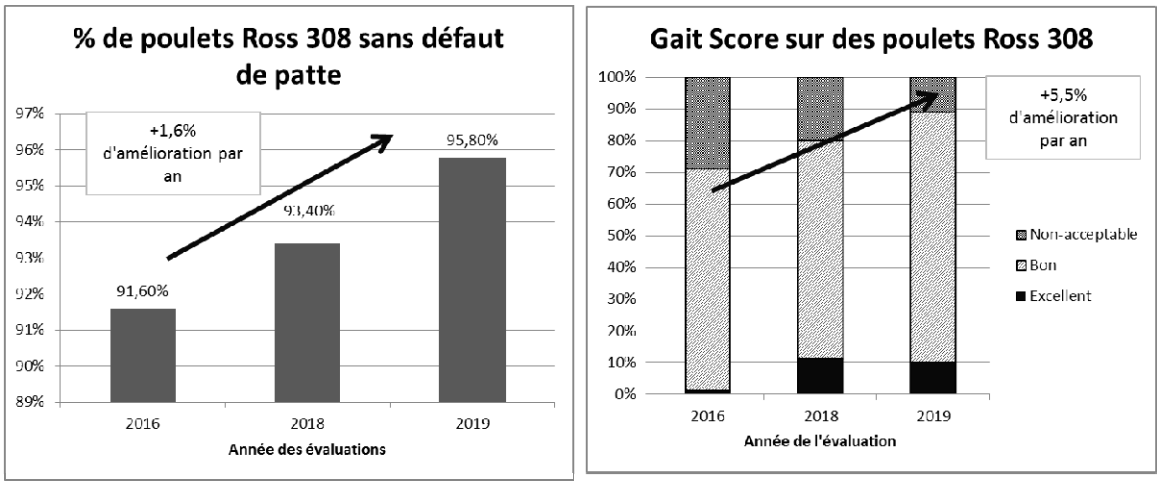


Figure 1. Compilation des données de 15 essais commerciaux (5 par an) démontrant l'amélioration à la fois sur le % d'animaux sans défaut de pattes et du gait score au cours du temps. Notation de 540 animaux à chaque essai. Gait score « Non-acceptable » = score de 35-45, « Bon » = 25-30 et « Excellent » = 10-20 dans le système de notation Aviagen

METHODOLOGIES POUR L'ETUDE DU COMPORTEMENT DE POULES PONDEUSES

Lucie Lorieau, Bruno Chevé, Clémence Bouget, Arnaud Cousin

EURONUTRITION – Domaine expérimental Le Pavillon, 72240 Saint-Symphorien
Lucie.Lorieau@euronutrition.fr

RÉSUMÉ
Le bien-être des animaux d'élevage est devenu une préoccupation majeure pour les consommateurs. Afin d'améliorer le bien-être animal, des changements de pratiques ont été réalisés en élevage. Ces changements ont entrainés des modifications du comportement des poules qu'il est important de caractériser. L'objectif de ce travail est de comparer les méthodes d'étude du comportement sur des poules pondeuses élevées en cages aménagées.
48 cages aménagées de 20 poules au bec entier, âgées de 15 à 43 semaines, ont été étudiées. Des notations de dégradation de ficelle, d'état de plumage et de qualité des œufs ont été réalisées. Celles-ci ont été complétées par des analyses comportementales par scan sampling (16 cages) et focal sampling (4 poules par 16 cages), à l'aide d'analyses vidéo. Des corrélations entre ces méthodes ont été étudiées à l'aide d'un test de Pearson.
Dans les 15 minutes suivant la distribution de l'aliment, 50 % du temps des poules a été consacré à manger. En revanche, l'utilisation du bec envers la cage ou les congénères n'a été effectuée que 1,5 % du temps lorsque l'aliment avait été distribué plus d'une heure auparavant. La comparaison des données obtenues grâce au focal et scan sampling a mis en évidence une corrélation positive entre les deux méthodes, pour tous les comportements de longue durée comme le picorage (r^2= 0.64). Cependant, pour les comportements de quelques secondes, comme le picage, la méthode du focal sampling était à prioriser car ceux-ci se révèlent trop courts pour être observés par scan sampling. De plus, il semble exister une relation négative entre le temps passé à la manipulation des ficelles, et les notes de plumage (R^2= -0,48 ; p<0.1). De même, le temps consacré à donner des coups de bec dirigés vers la cage et la proportion d'œufs déclassés ont une tendance à être positivement corrélés (R^2=0,46 ; p<0,1).
Des observations indirectes, rapides et faciles à mettre en place peuvent permettre une première approche comportementale. L'ajout d'une analyse fine à l'aide de focal sampling permet de mieux comprendre les comportements des animaux. La complémentarité des méthodes d'observations pourrait permettre d'évaluer les comportements plus précisément et d'identifier des stratégies d'élevage permettant l'amélioration du bien-être des poules.

ABSTRACT
Methods for behavior study of laying hens
Animal production and animal welfare are strongly linked with ethical, economic, environmental and social issues. Breeding systems and some practices are being challenged, and changes in practice can impact animal behavior. The objective is to compare the methods of studying the behavior of laying hens, in order to better characterize the modification of behavior according to breeding practice.
48 cages of 20 hens with beak intact, aged of 15 to 43 weeks, were studied. Behavioral scoring (cord using and feather score) was performed on 48 cages. Behavioral analysis were also conducted with scan sampling (16 cages) and focal sampling (4 hens per 16 cages), using video analysis. Correlations between methods were studied through logistic regression.
In the 15 minutes following the distribution of the feed, 50% of the hens' time was used to eating. Whereas, beak exploration was performed only 1.5% of the time when the feed was distributed more than an hour before.
The comparison of data obtained with focal and scan sampling methods highlighted a positive correlation for all long duration behaviors, such as eating (r^2= 0.64). However, when behaviors lasting a few seconds, such as cage pecking, focal sampling method was more suitable. In fact, these behaviors are too short to be observed by scan sampling. Also, focal sampling allowed to increase the number of individuals observed, thus improving statistical power of this measure.
In addition, there appeared to be a negative relationship between time spent using cords and feather scores (R^2= -0.48; p<0.1). Similarly, time spent pecking the cage and the proportion of downgraded eggs tended to be positively correlated (R^2=0.46; p<0.1).
Thus, quick and easy indirect observations can allow a first behavioral approach, in relation to breeding key criteria. The addition of a deep analysis using focal sampling could allow a better way to understand animals. This could help to find breeding strategies to improve animal welfare.

INTRODUCTION

Le bien-être des animaux d'élevage est devenu une préoccupation majeure pour les consommateurs. Afin d'améliorer le bien-être animal, des changements de pratiques ont été réalisés en élevage (comme par exemple l'élevage en volière, l'utilisation d'enrichissement, l'ajout de lumière naturelle ou encore l'arrêt de l'épointage pour une partie des élevage) Ces changements ont entrainé des modifications du comportement des poules et de leurs performances. Dans ce contexte, il est important de réussir à caractériser le comportement des poules pondeuses en fonction des pratiques d'élevage.

Différentes méthodes d'évaluation du comportement existent et ont bien été décrites (Welfare quality, 2016 ; Webster, 2000 ; Casey-Trott, et al., 2016 ; Rodenburg, 2003, Daigle and Siegford, 2014), cependant les méthodes présentées sont parfois compliquées à mettre en place car chronophage à la mise en place et / ou lors de l'analyse d'image. Aussi, certaines de ces méthodes sont difficilement transposables aux différents systèmes d'élevages existants (exemples : espace insuffisant pour l'installation des caméras, mauvaise visibilité des animaux en lien avec la luminosité ou le dispositif d'élevage).

L'objectif de ce travail est de comparer les méthodes d'étude du comportement sur des poules pondeuses au bec intact et élevées en cages aménagées. L'intérêt est de pouvoir plus facilement choisir les méthodologies à utiliser en fonction des problématiques étudiées et du temps nécessaire à y consacrer.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux, logement

Des poules pondeuses au bec entier ont été suivies entre 15 et 43 semaines d'âge. Les poules étaient logées en cages aménagées de 20 animaux (240cm de long x 62.5 cm de large, et 750 cm²/poule), dans un bâtiment comprenant 48 cages.
Deux ficelles agricoles bleues ont été suspendues dans chaque cage en tant qu'enrichissement. L'aliment a été distribué grâce à un système automatique, quatre fois par jour (6h15, 11h, 14h et 17h). L'ambiance générale du bâtiment était contrôlée chaque jour (température, hygrométrie, état sanitaire des animaux). Le taux de ponte, la qualité des œufs (poids moyen, nombre d'œufs déclassés), la consommation d'aliment moyenne journalière (CMJ) étaient mesurées de façon hebdomadaire, à la cage.

1.2. Etude du comportement

Ethogramme : A partir des éthogrammes existants (Webster, 2000 ; Casey-Trott, *et al.*, 2016 ; Rodenburg, 2003, Daigle and Siegford, 2014) un répertoire des comportements observables chez les poules étudiées a été construit (Tableau 1).

Tableau 1 : Répertoire des items comportementaux utilisés lors de l'analyse comportementale.

Item	Description
Mangeoire	Animal à la mangeoire, tête baissée
Boire	Animal à la pipette ou au bol
Tête	Animal immobile avec mouvements de tête
Toilette	Bec dans les plumes, lissage des plumes de la poule
Cage	Coups de bec dirigés vers la cage
Ficelle	Coups de bec dirigés vers la ficelle
Congénères	Coups de bec dirigés vers les congénères
Autre	Tout autre comportement (déplacement, repos, pondoir, émission de son)

Etude du comportement par analyse vidéo : Le comportement des poules pondeuses était enregistré à l'aide de quatre caméras de vidéosurveillance Foscam®. Les enregistrements vidéo ont été réalisés sur 4 semaines (Tableau 2). L'installation des caméras a été faite la veille pour que les animaux soient habitués au matériel. Les cages étaient entièrement filmées (2 caméras par cage). Les analyses étaient réalisées sur des périodes de 15 minutes (= 900 secondes) : 6h15/6h30, 7h15/7h30 et 8h15/8h30. Deux méthodes d'échantillonnage ont été utilisées : le scan et le focal sampling. Le scan sampling consiste à compter le nombre d'individus effectuant chaque comportement toutes les 30 secondes (= arrêt sur image). Le focal sampling consiste à chronométrer l'ensemble des comportements réalisés par un individu sur une période. Pour cette analyse, quatre individus ont été choisis, lors de chaque période, de manière aléatoire.

Etude du comportement par analyse indirecte : L'état des ficelles a été évalué par notation (0 : plus de ficelle à 4 : ficelle intacte). La première installation des ficelles était faite à 18 semaines d'âge, puis elles ont été remplacées à 26 semaines. L'état d'emplumement de chaque poule a été évalué par notation (1 : plumage intact à 3 : plumage très dégradé).

La planification de l'ensemble des mesures comportementales réalisées est indiquée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Semaines de réalisation des analyses comportementales

Analyses	Semaines d'âge							
	21	24	28	30	35	38	41	43
Enregistrements vidéo*	X		X		X		X	
Notes de ficelles**		X		X		X		X
Notes de plumage**		X		X				X

* : 8 cages étudiées ; ** : 48 cages étudiées

1.3. Traitement statistique des données

Les données ont été traitées grâce au logiciel R (version 4.0.2), sous environnement RStudio. Les méthodes d'échantillonnage (focal et scan sampling) ont été comparées par un test de corrélation de Pearson entre le budget temps évalué par scan sampling et le pourcentage de temps évalué par focal sampling. L'évolution des comportements (% de temps, budget temps) dans le temps a été étudiée à l'aide de modèle linéaire mixte avec la cage en facteur aléatoire.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Répartition des comportements – Méthode directe et indirecte

D'après les analyses vidéo, le comportement «Mangeoire » est majoritaire dans les premières minutes après la distribution de l'aliment par rapport aux heures suivantes ($p<0,001$) (Figure 2). Les comportements liés au picage envers la cage et les congénères étaient ainsi peu visibles.
Le comportement « Mangeoire » représente environ 40% des observations. Casey-Trott, et al. (2016), avaient obtenu des pourcentages d'environ 25% du temps et Webster (2000) environ 35% du temps sur des poules élevées dans un hébergement similaire à cette étude.

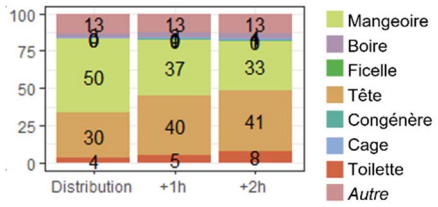


Figure 2 : Pourcentage de temps accordé à chaque comportement après la distribution de l'aliment

Les coups de bec dirigés vers la cage ou les congénères ont des occurrences assez faibles (Figure 3). Les poules étant majoritairement à la mangeoire après le repas, ces comportements sont peu visibles à ce moment, mais il est possible de les observer correctement plus de 1h après la distribution des aliments.



Figure 3 : Pourcentage de temps accordé pour les comportements de picage de la cage et des congénères après la distribution de l'aliment

Concernant les analyses indirectes, l'état des ficelles s'est dégradé rapidement au cours des 3 premières semaines, avec des ficelles effilochées et raccourcies après leur installation, puis lentement par la suite.
Mika et al. (2020) ont mis en évidence que l'intérêt des animaux, envers les enrichissements tels que les ficelles, diminue rapidement après leur installation d'où la nécessité de renouveler et diversifier les apports.

Si les observations de picage ne sont pas plus marquées avec l'âge, l'état du plumage des animaux s'est dégradé avec l'âge des poules comme le montre la figure 4 et comme décrit dans la littérature (Iqbal et al,. 2020)

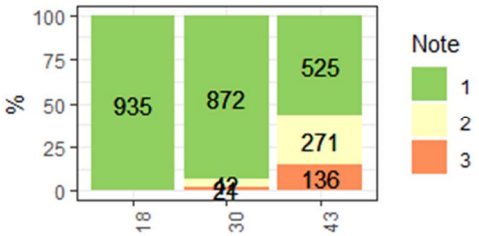


Figure 4 : Proportion de poules par état de plumage en fonction des semaines d'âge (1 : plumage intact à 3 : plumage très dégradé)

2.2. Comparaison scan et focal sampling

La comparaison des données obtenues grâce aux deux méthodes d'échantillonnage, sur les images vidéos, met en évidence une corrélation positive pour les comportements de longue durée (comportement « mangeoire » : $R^2 = 0,64$, $p < 0,0001$, « tête » : $R^2=0,83$, $p < 0,0001$) (Figure 1). Cependant, pour les

comportements de courte durée, dits évènements, cette corrélation est très faible. Ces comportements de courte durée comprennent le toilettage, les coups de becs dirigés vers la ficelle, la cage ou les congénères. Ceux-ci ont été très peu observés par scan sampling, car trop courts pour être visibles avec cette méthode. (Altamm, 1974 ; Mitlöhner, 2001 ; Amato, 2013)

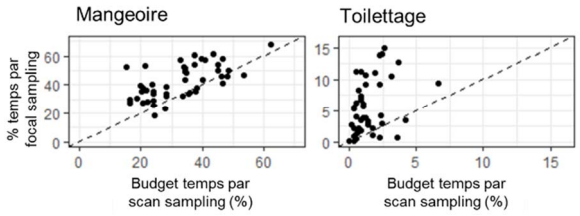


Figure 1 : Corrélations des données de focal et scan sampling– pour le comportement « mangeoire » (R^2 = 0,64 ; p < 0,0001) et « toilettage » (R^2 = 0,34 ; p = 0.023). La ligne pointillée représentante la bissectrice.

La méthode du focal sampling permet d'obtenir plus d'informations concernant les différents comportements, notamment alimentaire et de picage. Le temps d'analyse des vidéos par scan sampling est environ 1,5 fois supérieur à celui par focal sampling. L'augmentation de l'effectif avec utilisation du focal sampling est facilement réalisable, sans augmenter le temps d'analyse par rapport à un scan sampling, ce qui permet d'augmenter la précision de la mesure.

2.3. Intérêt des mesures indirectes

Il semble exister une relation négative entre le temps passé à la manipulation des ficelles, et les notes de plumage (R^2= -0,48 ; p<0.1). Ainsi, cette tendance indique que plus les poules dégradent la ficelle, plus leur plumage est dégradé. Cependant, ces résultats sont à l'inverse des études montrant que l'ajout d'enrichissement permet de limiter le picage et donc d'améliorer l'état du plumage des poules. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la ficelle n'est pas un enrichissement à picorer, comme peut l'être un bloc de luzerne (Zepp *et al*.,2018). Il semble également y avoir une corrélation positive (R^2=0,46 ; p<0,1) entre le temps consacré à donner des coups de bec dirigés vers la cage, et la proportion d'œufs déclassés.

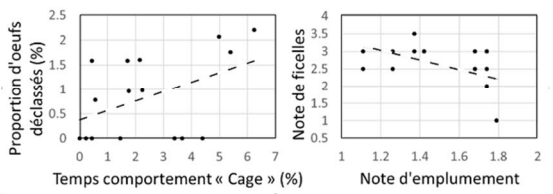


Figure 5 : Corrélations entre les différentes notations réalisées (droite de corrélation représentée en pointillée)

Ainsi, les mesures indirectes, sont une très bonne première approche pour observer des tendances de comportement dans un groupe. Elles peuvent dans certains cas être liées à des réponses zootechniques comme le nombre d'œufs déclassés. Ces mesures (note de plumage, note de dégradation de ficelle, et note de peur non présentées ici) restent cependant moins précises car le nombre de répétitions de la mesure est lié au nombre d'individus étudiés, et ce sont des échelles à 3 ou 5 points qui sont utilisées, ce qui ne permet pas d'étudier en finesse des comportements.

2.4 Bilan

Les analyses de comportement à l'aide du focal sampling à l'aide de vidéos via des caméras infrarouges permet une bonne visibilité des comportements sans perturber les animaux.
L'utilisation des méthodes de scan et de focal sampling ont mis en évidence que le focal sampling permet d'obtenir des données plus précises et de repérer la plupart des comportements, même de courte durée (comportements liés au picage notamment). C'était un des avantages énoncés par Altmann (1974). En fonction du comportement d'intérêt, il peut être utile d'étudier les poules, juste après la distribution de l'aliment, mais si l'objectif n'est pas le comportement alimentaire, alors il vaut mieux étudier les poules plus d'une heure après le repas, car c'est à ce moment que le pourcentage de temps passé à chaque comportement est stable. Ce type d'observation avait également été décrit par Daigle and Siegford en 2014.

Du fait de la faible luminosité, du nombre d'animaux par groupe et de l'impossibilité de distinguer les poules entre elles, il n'a pas été possible de suivre l'évolution de certains individus spécifiques dans le temps.

Aussi, des notations de comportements comme les notes de plumage ou d'utilisation d'enrichissement « nouveau » (ficelle installée pour quelques jours uniquement), ont permis de compléter les données d'analyse vidéo. Ces mesures ont l'avantage d'être rapides et nécessitent peu de matériel, tout en permettant d'expliquer quelques réponses zootechniques.

CONCLUSION

Ce travail a permis de comparer les méthodes pour l'étude du comportement des poules pondeuses. Des observations indirectes rapides et faciles à mettre en place peuvent permettre une première approche

comportementale, parfois en lien avec des critères zootechniques. Une analyse fine à l'aide de focal sampling est complémentaire pour mieux comprendre les comportements des animaux. La complémentarité des méthodes d'observations pourrait aider à trouver des améliorer le bien-être des animaux, tout en conservant leurs performances.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Altmann, 1974, J. Behaviour, , 49(3-4), 227-266.
Amato, K R., Van Belle, S., et Wilkinson, B. 2013,. Folia Primatologica, 84(2), 87-101.
Casey-Trott, TM. et Widowski, TM. 2016, Frontiers in veterinary science, 3, 42.
Daigle, C L. et Siegford, J M.. Behavioural processes, 2014, 103, 58-66.
Iqbal, Z., Drake, K., Swick, R A., et al. 2020, Poultry science, 99(5), 2307-2314.
Mika A., Guinebretière M., Coton J., Lefort A.C., Lebourhis C., Bignon L., 2020. Innov. Agro., 79, 281-297
Mitlöhner, F. M., Morrow-Tesch, J. L., Wilson, S. C., Dailey, J. W., & McGlone, J. 2001, Journal of animal science, 79(5), 1189-1193.
Rodenburg, T. B., Buitenhuis, A. J., Ask, B., Uitdehaag, K. A., Koene, P., Van der Poel, J. J., & Webster, A. B. 2000, Poultry Science, 79(2), 192-200.
Zepp, M., Louton, H., Erhard, M., Schmidt, P., Helmer, F., & Schwarzer, A. , 2018, Journal of Veterinary Behavior, 24, 9-18.

EVALUATION DES PERFORMANCES DES POULES REPRODUCTRICES CHAIR DANS UN CENTRE D'ELEVAGE INDUSTRIEL EN ALGERIE

Belaid-Gater Nadia[1, 2], Mouhous Azeddine[1], Saidj Dahia[3], Bakhelal Amina[1], Merhab Thileli[1], Kadi Si Ammar[1]

[1]Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie.
[2]ITMAS de Boukhalfa, Tizi-Ouzou. Algérie.
[3]Institut des sciences vétérinaires, Université Saad Dahlab, Blida. Algérie.
gaternadia@gmail.com

RÉSUMÉ

Un effectif de 165651 de poules reproductrices de 3 souches (ISA, Arbor Acres et Cobb 500), réparties sur sept bandes, a fait l'objet d'une évaluation des performances zootechniques au niveau d'un complexe avicole industriel. Les données ont été obtenues des bilans de fin de bandes, des fiches hebdomadaires et des registres d'élevage archivés durant quatre années consécutives. Les données enregistrées et/ou calculées ont été soumises à une analyse de variance avec la bande et la souche comme facteurs de variation. La durée de production a été plus longue soit 52 semaines (S) d'âge dans la 3ème bande avec la souche Cobb 500 et la 4ème bande avec la souche Arbor Acres. Les reproductrices de la souche ISA de la 2ème bande étaient les moins exploitées avec 19 S d'écart soit une durée de ponte de 33 S justifiée par l'âge de réforme (53 S). Le taux de mortalité moyen/j a été élevé dans la 5ème et 6ème bandes avec la même souche ISA. La production d'œufs par poule départ a été plus élevée dans la 1ère bande avec la souche ISA, en moyenne 198,47 œufs par rapport aux deux autres souches. Le taux de pic de ponte a été similaire dans les trois souches (87,17%). Le taux d'éclosion moyen a été plus élevé avec la souche ISA dans la 2ème bande (80,34%). Le taux de casse moyen des œufs a été plus élevé dans la 7ème bande avec la souche Cobb 500 (4,11%). Le niveau de ces performances est inférieur à celui préconisé dans les guides d'élevage des trois souches. Les pertes de cheptel sont importantes, dépassant parfois les 40%. Elles seraient dues à des problèmes d'ordre sanitaire et d'hygiène ainsi qu'au manque de maîtrise des conditions d'ambiance.

Mots clés : Reproductrices chair, phase de production, souches, performances.

ABSTRACT

Performance evaluation of broiler breeder hens in an industrial breeding center in Algeria
A total of 165651 breeding hens of 3 strains (ISA, Arbor Acres and Cobb 500), distributed over seven flocks, was evaluated for their zootechnical performance in an industrial poultry complex. The study was carried out on the basis of end-of-flock reports, weekly records and breeding registers archived for four consecutive years to form the database. The recorded and/or calculated data were subjected to an analysis of variance with band and strain as factors of variation. The production length was longer at 52 weeks (W) of age in the 3rd flock with the Cobb 500 strain and the 4th flock with the Arbor Acres strain. The ISA strain in the 2nd flock was the least exploited with 19 S of difference, i.e. a laying duration of 33 S justified by the shortest culling age (53 S). The mortality rate was high in the 5th (0.14%) and 6th flocks (0.09%) with the same ISA strain. By production cycle, the same flocks with the ISA strain as expected had the highest average mortality rates, respectively 43.45% and 22.50%. The egg production per hen was higher in the first flock with the ISA strain, on average 198.47 compared to the other two strains. The same strain (ISA) had the highest average laying rate in the second flock (69.10%). The peak egg laying rate was similar in all three strains (87.17%). The average hatching rate (80.34%) was highest with the ISA strain in the second band. The average breakage rate was higher in the 7th band with the Cobb 500 strain (4.11%). The level of performance is lower than that recommended in the breeding guides for the three strains. Flock losses were high, sometimes exceeding 40%. These losses were due to health and hygiene problems and to a lack of control of environmental conditions.

INTRODUCTION

En Algérie, la filière avicole a connu depuis les années 1980 un développement notable. Cet essor contribue à la création d'emplois et à la réduction du déficit en protéines animales (Kaci, 2014), la réorientation des éleveurs algériens vers la production avicole intensive est devenue une préoccupation majeure de l'Etat, afin d'accroître les disponibilités en protéines animales (Mouhous et al., 2021). Ainsi, le nombre d'élevages avicoles ne cesse d'augmenter grâce à la politique avicole mise en place favorisant particulièrement le capital privé (Kadi et al., 2015). Selon Abdeldjelil et al. (2010), le faible niveau de technicité des aviculteurs algériens ainsi que le manque d'investissement dans les bâtiments et les équipements d'élevage, sont à l'origine des difficultés dans la maîtrise des conditions d'ambiance, engendrant ainsi une baisse des performances, un gaspillage d'intrants et des taux de mortalités excessifs. Belaid-Gater et al. (2019a et b) ont observé un allongement du cycle de production par manque de maîtrise de l'alimentation et de la prophylaxie. Sur le plan des performances, la filière avicole reste encore fragile et très sensible aux variations des facteurs aussi bien endogènes qu'exogènes (Kaci, 2014). La résultante de ses facteurs a réalisé des performances (taux de mortalité, indice de consommation, productivité,...) loin des normes internationales (Kaci et Keffache, 2018). C'est dans cette optique que nous nous proposons d'évaluer les performances zootechniques des reproducteurs chair pendant la période de ponte et de l'effet des souches utilisées. Ces résultats sont obtenus au niveau d'un complexe avicole industriel privé dans la région de Boumèrdes (Algérie) sur une période de quatre années consécutives.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Bâtiments et conduite d'élevage

La qualité des bâtiments, la mécanisation des opérations (alimentation et abreuvement) ainsi que l'importance des effectifs (capacité d'élevage de 10 000 sujets reproducteurs chair par année) sont les éléments qui ont motivé le choix de ce complexe avicole industriel. Ce dernier est équipé de cinq bâtiments en dur de type obscur, de différentes surfaces allant de 720 m² à 1350 m².

La température ambiante des bâtiments varie entre 22 et 24°C. La ventilation est dynamique de type tunnel et unilatérale. Le système de refroidissement de l'air est de type pad-cooling. Les bâtiments étant de type obscur, l'éclairement est artificiel. L'intensité lumineuse dans chaque bâtiment est contrôlée par un variateur placé au niveau du sas sanitaire.

Le complexe possède une unité de fabrication d'aliment qui couvre tous les besoins alimentaires des animaux tout au long de la période de production. Deux aliments sont distribués pendant la période de production ; aliment pré ponte (entre 18 et 24 semaines) et aliment ponte (de 24 semaines jusqu'à la réforme). Ces aliments sont à base de maïs, tourteaux de soja, son de blé et enrichit par du calcaire, phosphate et CMV, formulé selon les besoins de la souche exploitée. La distribution est automatique. La quantité distribuée est de 166 g/poule/jour et de 130g/coq/jour. Les souches exploitées sont l'ISA, la Cobb500 et l'Arbor Acres.

Les pondoirs sont des caisses en plastique et en aluminium placées tout au long des cinq bâtiments à raison d'une caisse (nid) par 10 poules reproductrices. Le ramassage des œufs est manuel et quotidien.

Le complexe possède un couvoir d'une capacité de production de 100 000 poussins doté de plusieurs incubateurs (chacun d'une puissance de 4800 œufs à couver) et éclosoirs.

Le contrôle sanitaire est effectué quotidiennement par le vétérinaire du complexe.

1.2. Collecte des données et paramètres étudiées

Les données ont été collectées au niveau du service des archives du complexe avicole. La base de données est constituée des fiches techniques journalières et hebdomadaires, des registres d'élevage et des bilans de fin de bande archivés durant quatre années consécutives (2011-2014). Les données sont saisies et classées dans un tableur sur *Microsoft Office Excel© 2013*. Les paramètres étudiés sont basés sur les effectifs des animaux suivis ainsi que des calculs des durées de pontes, de leur production, l'âge des reformes, les taux de ponte et de mortalité. Pour les œufs, les taux d'éclosion et de casses ont aussi été l'objet de notre étude.

1.3. Analyses statistiques

Les données recueillies et/ou calculées ont été soumises à une analyse de variance à l'aide du logiciel R 3.6.1 avec la bande et la souche comme facteurs de variation. Les différences ont été considérées significatives à $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Effectifs mis en place

L'effectif total de poules reproductrices mis en place a été de 165651 avec une moyenne par bâtiment et par bande élevé en 2012 avec la souche Cobb 500 (5422 sujets) et faible en 2011 avec la souche ISA (2536,2 sujets ($p<0,001$; Tableau 1). La souche ISA est la plus exploitée dans le complexe avicole (4 bandes en 2011, 9 en 2012, 6 en 2013 et 6 bandes en 2014). Suivie de la souche Cobb 500 (4 bandes en 2012 et 6 bandes en 2014). La souche la moins exploitée a été l'Arbor Acres avec seulement 5 bandes en 2012. Durant la période de l'étude, Chérifi et al. (2012) avaient rapportées que la souche ISA était la plus utilisée dans les élevages de reproducteurs chair en Algérie.

2.2. Durée de ponte

La durée de ponte est significativement différente (Tableau 1) entre les différentes souches et périodes. D'après les guides d'élevage de la souche Cobb500 et la souche Arbor Acres, la durée de production est respectivement de 41 et 39 semaines. Ces souches étaient surexploitées dans le complexe avicole étudié puisque leur réforme était tardive avec un écart, par rapport au guide d'élevage, important de 11 semaines pour la souche Cobb 500 et de 13 semaines pour la souche Arbor Acres. Le guide de la souche ISA recommande une durée de production de 40 semaines. La durée de ponte notée dans cette étude est plus élevée que celle enregistrée par Mahmoudi et al. (2015) en Algérie dans la région de M'sila qui est de 33,5 semaines.
La variation significative ($p<0,001$) de la durée de ponte des sept bandes est étroitement liée à la variation significative de l'âge de réforme ($p<0,001$) qui est plus tardif et le même dans la 3ème bande et la 4ème bande soit 72,25 semaines.

2.3. Taux de mortalité quotidien et cumulé par cycle de ponte

Le taux de mortalité cumulé pendant tout le cycle de ponte est très élevé ($p<0,001$; Tableau 1) à la 5ème bande en 2013 avec la souche ISA soit 43,45% comparé à celui enregistré dans les autres bandes. Comme attendu, c'est la même bande (souche ISA) qui a enregistré le taux de mortalité quotidien le plus élevé, soit 0,14% par jour. Le guide de la souche ISA préconise de ne pas dépasser 10% durant toute la période de ponte. Mais c'est la même souche ISA qui a enregistré le taux de mortalité cumulé, une année auparavant, le moins élevé soit 9,42%. La plus faible moyenne de mortalité enregistrée dans cette étude dépasse la mortalité enregistrée dans les élevages de reproducteurs chair dans les wilayas de Bouira et de M'Sila (Algérie) qui est estimée en moyenne à 7,8% en période de ponte par Dilmi et al. (2012). Le taux de mortalité le plus faible enregistré dans cette étude est similaire (9,42% *vs* 9,32%) à celui enregistré par Mahmoudi et al. (2015) dans la wilaya de M'sila (Algérie).
D'après Alloui et al. (2003), il est indispensable de connaître le statut hygiénique de chaque poulailler avant de commencer l'élevage. Aussi, plusieurs travaux (Kadi et al., 2015 ; Belaid-Gater et al., 2019b; Saidj et al., 2021) ont montré que les conditions hygiéniques des poulaillers ainsi que le bien être des volailles ne sont pas toujours respectés dans les conditions de production algériennes.

2.4. Production par poule départ

La meilleure production a été enregistrée par la souche la plus exploitée ISA en 2011 ($p<0,01$; Tableau 1). Sa production a été plus élevée de 16% (198,47oeufs/poule départ) comparée à la norme préconisée par le guide de la souche (un nombre total d'œufs/poule de 171,2) pour la même durée de ponte (64 semaines).
La moyenne de production la plus élevée enregistrée par la Cobb500 a été de 164,01 œufs/poule départ avec une durée de ponte de 52 semaines. Elle est inférieure aux normes préconisées par le guide de la souche qui sont de 181,3 œufs/poule départ mais avec une durée de ponte moins élevée (41 semaines). Pour la souche Arbor Acres, la moyenne de production a été de 181,1 œufs/poule départ avec une durée de 52 semaines, elle est inférieure à celle préconisée par le guide d'élevage de la souche qui est de 189 œufs/poule avec une durée de ponte moins élevée de 12 semaines soit une durée de production de 40 semaines.
Les productions des trois souches étaient supérieures comparées à celle rapportées par Mahmoudi et al. (2015) pour quelques élevages privés dans la région de M'sila qui est de 148 œufs/poule départ mais avec une durée de ponte moins élevée (30,5 S pour la souche ISA et 19 S pour la souche Cobb500 et Arbor Acres).

2.5. Taux de Ponte

Le taux de ponte a été significativement meilleur avec les poules de la souche ISA dans la 2ème bande ($p<0,001$; Tableau 1) avec un taux de 69,10% en 2012, il est plus élevé que les taux de ponte moyens enregistrés par Chérifi et al. (2012) (58%) et par Dilmi et al. (2012) (57,9%). C'est la même souche (ISA) qui a enregistré le taux de ponte le plus faible soit 57,53% en 2013 et 2014.
Le taux de ponte moyen de la souche Cobb 500 a été de 62,91%. D'après le guide de la souche, ce taux varie de 45% à 86% tout au long de la période de ponte de 40 semaines. Le taux de ponte moyen de la souche Arbor Acres a été de 60,1%. D'après le guide de la souche, le taux varie de 50% à 88,24% pendant toute la période de production de 39 semaines.

2.5. Taux de pic de ponte

Le niveau maximum de production a été similaire soit 87,17% pendant les quatre années de production, dans les sept bandes et pour les trois souches ($p=0,0567$; Tableau 1). Le pic est très proche de celui recommandé par les guides des trois souches (ISA et Cobb 500 soit 86%) et celui de la souche Arbor Acres (88,24%).
D'après le guide de la souche ISA, le maintien d'une persistance de ponte et d'éclosion satisfaisante demande une bonne gestion du poids de la poule entre le pic de ponte et la réforme.

2.5. Taux de casse

Le taux de casse des œufs a été faible (1,56%) en 2011 avec la souche ISA mais élevé (4,11%) en 2014 avec la souche Cobb 500 ($p<0,001$; Tableau 1). Cette casse est principalement due au système de ramassage manuel des œufs qui cause d'importantes pertes en termes de casse et au transport des œufs des bâtiments d'élevage à la salle de stockage (chambre froide) puis de cette dernière au couvoir. La casse pourrait être justifiée aussi par la mauvaise qualité de la coquille.
Le déclassement des œufs lié à la présence de coquilles cassées ou fêlées reste notable (plus de 10%) et a des conséquences économiques importantes (Nys, 2001).

2.5. Taux d'éclosion

Le meilleur taux d'éclosion a été enregistré durant l'élevage de la souche ISA en 2012 avec 80,34% ($p<0,001$; Tableau 1). Le guide d'élevage de la souche recommande un pourcentage moyen d'éclosabilité de 83,1%. C'est la même souche qui a enregistré les taux les plus faibles en 2011, 2013 et 2014 avec une moyenne de 64,73% similaire au taux d'éclosion moyen (64%) enregistré par Cherifi et al. (2012).

Le taux le plus élevé enregistré par la souche Cobb 500 a été de 76,22% en 2014. Il est dans l'intervalle des taux d'éclosion cumulés qui varient de 72% à 85,6% préconisés par le guide de la souche. Pour la souche Arbor Acres, le taux d'éclosion le plus élevé a été de 73,66%. Il est inférieur comparé au taux d'éclosion moyen préconisé par le guide de la souche qui est de 86,%.

Les résultats de Boukhris (2014) ont montré une évolution croissante simultanée du taux d'éclosion avec l'âge des poules reproductrices de la souche ISA 15 pour atteindre le pic à l'âge de 36 semaines (85%). Cependant, à partir de la 36ème semaine, il décroît progressivement pour atteindre 71% à l'âge de 70 semaines.

CONCLUSION

Globalement, les performances de production notamment le taux de ponte et le taux d'éclosion des souches exploitées enregistrés à la fin de cette étude sont proches des résultats espérés et recommandés par les guides d'élevages. Toutefois, d'autres performances restent insuffisantes, particulièrement le taux de mortalité largement supérieur à 10%.

Pour optimiser sa productivité, le complexe avicole de reproducteurs chair nécessite des améliorations au niveau sanitaire et technique, notamment l'installation des pondoirs aux normes et en nombre (à raison de cinq poules reproductrices par nid) et des systèmes de ramassage automatique des œufs dans tous ses bâtiments ; principales difficultés pour la maîtrise de cet élevage et cela quelque soit la souche mise en place.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdeldjelil M.C., Messaï A., Beghoul S., Bensegueni A., Benazzouz H., 2010. 1er Symposium National des Sciences Avicoles Batna, 11 novembre 2010.

Alloui N., Ayachi A., Alloui Lombarkia O., Zeghina D., 2003. 5èmes JRAPFG Tours (France), 26-27 mars 2003

Arbor Acres Plus, 2016. www.aviagen.com

Belaid-Gater N., Kadi S.A., Mouhous A., Oulkadi T., Nait Saada L. 2019a. 13èmes JRAPFG. Tours (France), 20-21 mars 2019. PP : 802-806.

Belaid-Gater N., Kadi S.A., Mouhous A., Tahir L., Hamadache M. 2019b. 13èmes JRAPFG. Tours (France), 20 et 21 mars 2019. PP : 535-538.

Boukhris R., 2014. IIIème Symposium de la Recherche Avicole. 20-21 Octobre 2014. Batna-Algérie.

Cherifi Z., Berchiche M., Boudouma D., 2012. 10èmes JSV - 27 et 28 mai 2012 – ENSV d'Alger

Cobb 500, 2013. Cobb-vantress.com

Dilmi A., Ferhat Y., Sifouane A., Temim S., Ain baziz H., 2012. 10èmes JSV, 27-28 mai 2012 – ENSV d'Alger

Hubbard ISA., 2015. www.hubbardbreeders.com

Kaci A., Keffache H., 2018. Les cahiers du Cread, N°118

Kaci A., 2014. Thèse de doctorat, École Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger.

Kaci A., Cheriet F., 2013. New Medit, 12:2, 11-21

Kadi S A., Bouchema A., Mouhous A., 2015. 11èmes JRAPFG, Tours (France), les 25 et 26 mars 2015

Mahmoudi N., Yakhlef H., Thewis A., 2015. Cah Agric, vol. 24, n°3, mai-juin 2015.

Mouhous A., Guermah H., Djellal F., Kadi S.A., 2021. *VETERINARIA, 70(1), 59-71.*

Nys Y., 2001. 13th Eur. Symp. Poult. Nutr., Blankenberge, Belgique, 2001/09/30 WPSA, Belgium, 45-52.

Saidj D., Mouhous A., Bouchema A., Kadi S.A. 2021. 1er Séminaire National en Sciences Agronomiques RAVESA-AGROWEB1, 15-16 Juin 2021, Université de M'Sila (Algérie).

Tableau 1. Performances globales enregistrées durant quatre années au niveau du complexe étudié

Paramètres	Band 1 ISA 2011	Bande 2 ISA 2012	Bande 3 Cobb500 2012	Bande 4 Arbor Acres 2012	Bande 5 ISA 2013	Bande 6 ISA 2014	Bande 7 Cobb500 2014	P
Effectif moyen mis en place/bâtiment	2536a	2728a	5422c	3600ab	4980c	5180c	4628bc	<0,001
Age réforme (semaines)	64b	52,77a	72,25c	72,25c	63,33b	55,66a	54,33a	<0,001
Durée de ponte (semaines)	44b	32,77a	52,25c	52,25c	43,33b	35,66a	34,33a	<0,001
Taux de mortalité/jour (%)	0,03a	0,04a	*	*	0,14c	0,09b	0,05ab	<0,001
Taux de mortalité/cycle de production (%)	11,16a	9,42a	*	*	43,45c	22,50b	12,34ab	<0,001
Production/poule départ (nombre d'œufs)	198,4b	155,4ab	164,0ab	181,6ab	152,8ab	129,9a	144,6a	<0,01
Taux de ponte (%)	68,71bc	69,10c	61,67ac	60,10ab	57,25a	57,81a	64,15ac	<0,001
Taux de pic de ponte (%)	91,22a	86,52a	86,87a	87a	83,63a	83,43a	91,55a	0,0567
Taux de casse (%)	1,54a	1,88a	2,35ab	2,02a	3,34cd	3,02bc	4,11d	<0,001
Taux d'éclosion (%)	63,10a	80,34c	74,84b	73,66b	67,88a	63,22a	76,22bc	<0,001

Sur la même ligne, les chiffres avec des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0,05$)
* : Données non disponibles

EVALUATION DES PERFORMANCES DES POULES REPRODUCTRICES CHAIR DANS UN CENTRE D'ÉLEVAGE INDUSTRIEL EN ALGÉRIE

Belaid-Gater Nadia[1, 2], Mouhous Azeddine[1], Saidj Dahia[3], Bakhelal Amina[1], Merhab Thileli[1], Kadi Si Ammar[1]

[1]Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie.
[2]ITMAS de Boukhalfa, Tizi-Ouzou. Algérie.
[3]Institut des sciences vétérinaires, Université Saad Dahlab, Blida. Algérie.

gaternadia@gmail.com

Objectifs: Évaluer les performances zootechniques des reproducteurs chair et l'effet des souches utilisées
Période: La période de ponte sur une durée de quatre années consécutives (2011-2014)
Lieu: Complexe avicole industriel privé dans la région de Boumèrdes (Algérie)

Méthodologie

***La base de données est constituée:**
- Des fiches techniques journalières et hebdomadaires
- Des registres d'élevage et
- Des bilans de fin de bande



***Les paramètres étudiés sur les poules reproductrices sont:**
- L'effectif moyen mis en place par bâtiment
- L' âge de réforme
- La durée de ponte
- La production par poule départ
- Le taux de ponte
- Le taux de pic de ponte
- Les taux de mortalité par jour
- Les taux de mortalité par cycle de production



***Les paramètres étudiés sur les œufs fécondés sont:**
- Le taux de casse
- Le taux d'éclosion



Résultats

Tableau 1. Performances globales enregistrées durant quatre années au niveau du complexe étudié

Paramètres	Band 1 ISA 2011	Bande 2 ISA 2012	Bande 3 Cobb500 2012	Bande 4 Arbor Acres 2012	Bande 5 ISA 2013	Bande 6 ISA 2014	Bande 7 Cobb500 2014	P
Effectif moyen mis en place/bâtiment	2536a	2728a	5422c	3600ab	4980c	5180c	4628bc	<0,001
Age réforme (semaines)	64b	52,77a	72,25c	72,25c	63,33b	55,66a	54,33a	<0,001
Durée de ponte (semaines)	44b	32,77a	52,25c	52,25c	43,33b	35,66a	34,33a	<0,001
Taux de mortalité/jour (%)	0,03a	0,04a	*	*	0,14c	0,09b	0,05ab	<0,001
Taux de mortalité/cycle de production (%)	11,16a	9,42a	*	*	43,45c	22,50b	12,34ab	<0,001
Production/poule départ (nombre d'œufs)	198,4b	155,4ab	164,0ab	181,6ab	152,8ab	129,9a	144,6a	<0,01
Taux de ponte (%)	68,71bc	69,10c	61,67ac	60,10ab	57,25a	57,81a	64,15ac	<0,001
Taux de pic de ponte (%)	91,22a	86,52a	86,87a	87a	83,63a	83,43a	91,55a	0,0567
Taux de casse (%)	1,54a	1,88a	2,35ab	2,02a	3,34cd	3,02bc	4,11d	<0,001
Taux d'éclosion (%)	63,10a	80,34c	74,84b	73,66b	67,88a	63,22a	76,22bc	<0,001

Sur la même ligne, les chiffres avec des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0,05$)
* : Données non disponibles

Conclusion

- Les performances de production notamment le taux de ponte et le taux d'éclosion des souches exploitées sont proches des résultats recommandés par les guides d'élevages
- Le taux de mortalité est largement supérieur à 10%

SELECTION D'UN PANEL D'INDICATEURS POUR L'EVALUATION EN FERME DE L'ETAT DES CANARDS MULARDS EN PHASE D'ENGRAISSEMENT

Litt Joanna[1], Laborde Clément[1], Leterrier Christine[2], Fortun-Lamothe Laurence[3]

[1]Institut Technique de l'Aviculture, Agrocampus, 1003 Allée Jean d'Arcet, 40280 Haut Mauco,
[2]UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, Centre Val de Loire, 37380 Nouzilly,
[3]GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, ENVT, 31326 Castanet Tolosan
litt@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Pour évaluer l'état des canards mulards en phase d'engraissement, un protocole d'observation et un panel d'indicateurs facilement mesurables ont été élaborés en utilisant le cadre conceptuel d'évaluation EBENE. Le présent travail visait à évaluer la sensibilité, la répétabilité, la reproductibilité et la faible redondance de 23 indicateurs d'état mesurés sur les animaux. Pour cela des mesures ont été réalisés en ferme sur un panel de 20 élevages de canards mulards. Pour vérifier la fiabilité de notre méthode d'évaluation, nous avons mesuré la répétabilité en quantifiant l'accord entre les évaluations faites par un même observateur à deux temps différents et mesuré la reproductibilité en quantifiant l'accord entre les évaluations réalisées simultanément par deux observateurs. La sensibilité des indicateurs et la redondance des indicateurs ont été vérifiées en quantifiant respectivement la variabilité des résultats obtenus sur notre jeu de données et la corrélation entre les différents indicateurs mesurés. Les résultats montrent que 4 indicateurs (Halète, Yeux sales, Plumes mouillées et Lésion patte) sont répétables et reproductibles, sensibles et peu redondants. Quatre autres (Traces d'aliment, Traces de sang, Hérissés et Blottis), sensibles et peu redondants, ne sont en revanche validés que du point de la vue de la répétabilité ou de la reproductibilité. La méthodologie d'observation devra préciser mieux les seuils de notation de certains indicateurs et la mise en œuvre d'un programme de formation des observateurs sera nécessaire. Trois indicateurs (Mortalité, Prostré et Boiteux) relatifs à des états très dégradés, pourraient par ailleurs constituer des alertes faciles à mesurer.

ABSTRACT

Selection of a set of indicators that can be used for an on-farm assessment of ducks status during the fattening period

To assess the status of fatty mulard ducks, an observation procedure and a set of easily measurable indicators were proposed using the EBENE assessment framework. The present work aimed to evaluate the sensitivity, repeatability, reproducibility and low redundancy of 23 health and behavioural indicators measured on animals. For this purpose, measurements were carried out on a panel of 20 duck farms. To verify the reliability of our assessment method, we measured repeatability by quantifying the agreement between assessments made by the same observer at two different times and measured reproducibility by quantifying the agreement between assessments made at the same time by two observers. Sensitivity and redundancy were verified by quantifying the variability of the results obtained on our dataset and the correlation between the different indicators measured, respectively. The results show that 4 indicators (Panting, Dirty eyes, Wet feathers and Leg lesion) are repeatable and reproducible, sensitive and low redundancy. Four other indicators (Feed stain, Blood stain, Ruffled and Huddled) are sensitive and not very redundant, but are only validated from the point of view of repeatability or reproducibility. The observation methodology will have to better specify the scoring thresholds for certain indicators and the implementation of an observer training program will be necessary. Three indicators (Mortality, Prostrate and Lame) related to very degraded states, could also constitute easy to measure alerts.

INTRODUCTION

Une étude précédente (Litt *et al.*, 2020) a permis d'établir un corpus de 13 indicateurs sensibles à des variations d'état du canard lors du gavage en conditions expérimentales. Parmi eux, (i) 7 différaient entre les stades début et fin de gavage, (ii) 6 étaient aussi impactés par la stratégie alimentaire. Avant de recommander leur utilisation, il convient d'en vérifier les qualités en élevage.

Les mesures sur animaux sont sujettes à des variations et leur fiabilité peut représenter une limite dans un outil d'évaluation du bien-être (De Rosa et al., 2003; Lensink et al., 2003). La fiabilité d'un indicateur mesuré sur l'animal se définit comme l'étroitesse de l'accord entre des résultats indépendants obtenus sous différentes conditions (ISO, 1993, 1994). Elle peut s'examiner notamment selon deux aspects : la répétabilité et la reproductibilité. Certains paramètres peuvent avoir des significations proches d'un point de vue de l'animal, ce qui peut biaiser les résultats en donnant plus de poids à une composante de l'évaluation (Lairez et al., 2017). Il est nécessaire d'examiner aussi leur redondance pour éliminer ceux donnant plusieurs fois la même information. L'objectif de l'étude était de valider la fiabilité, la sensibilité et la redondance des indicateurs en ferme.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Choix des fermes et organisation des visites

Deux séries de 10 fermes (séries A et B) ont été suivies de juillet à octobre 2019. Les fermes ont été choisies selon leur localisation (départements 40, 64 et 32) et le mode d'hébergement des animaux (loges de 4 à 6 places). Pour la série A (évaluation de la répétabilité), des mesures ont été effectuées à J8-J9 après mise en gavage par 1 personne (observateur 1) lors de 2 visites espacées d'1h. Pour la série B (évaluation de la reproductibilité), des mesures ont été effectuées à J4-J5 par 2 personnes (observateurs 1 et 2) positionnées simultanément devant une même loge. La formation des observateurs a consisté en 5 visites communes (hors échantillon) pour (i) s'approprier les référentiels expliquant les indicateurs mesurés et (ii) discuter et préciser les seuils de notation. Les mesures sur les fermes de la série B ont été répétées à J8-J9 par l'observateur 1 pour compléter l'échantillon.

1.2. Mesures et échantillonnage intra-fermes

Pour chaque visite (début des mesures entre 14h et 15h30), 23 indicateurs liés à l'état des animaux ont été mesurés. Seuls certains d'entre eux sont présentés (Tableau 1). La plupart des indicateurs sanitaires ont été tirés de Marchewka et al. (2015) et adaptés par Bignon et al. (2017). Les indicateurs d'état ont été mesurés dans les conditions lumineuses utilisées lors du gavage, ou 15 min après modification éventuelle de celles-ci, et 5 min après l'entrée du (des) observateurs. Pour la série A, 3 groupes de 7 à 8 loges ont été observés, puis les observations ont été répétées. Pour la série B, 6 groupes de 7 à 8 loges ont été observés. Pour chaque groupe, le (les) observateur(s) se plaçai(en)t devant une loge durant 1 min pour faire les mesures, puis passai(en)t à la loge suivante. Ont d'abord été relevés des indicateurs de santé, puis les indicateurs comportementaux pendant 30 s. La mortalité a été relevée sur la feuille d'élevage. Pour limiter la perturbation des animaux liée à la présence du (des) observateur(s), les indicateurs comportementaux ont été mesurés dans la loge située à l'opposé par rapport à la fosse de déjections de celle devant laquelle le (les) observateur(s) étai(en)t placé(s). Chaque indicateur d'état a été noté comme présent (1) ou absent (0) pour chaque animal de la loge. Les traces d'aliment /sang ont été notées comme présentes (1) ou absentes (0) à différents endroits de la loge. La réaction des animaux à l'observateur (Blottis) a été évaluée par une note (0 = animaux répartis sur toute la loge ; 3 = animaux se piétinant). Des indicateurs de moyens (n = 17 ; non présentés) pouvant compléter l'évaluation ont par ailleurs été relevés *via* un questionnaire et des relevés dans l'atelier.

1.3. Sélection de variables et analyses statistiques

Une analyse descriptive a permis de trier les indicateurs selon leur prévalence : 14 d'entre eux (Petit, Boit, Repos, Couché, Mort, Prostré, Boiteux, Lésion sur le corps, Perte de plumes, Interaction positive, Agression, Se toilette, S'étire et Explore) ont une prévalence très faible (< 3 % dans les 20 fermes) et ont été exclus de l'analyse. Les données ont été analysées avec le logiciel R (R-core Team). La répétabilité et la reproductibilité ont été évaluées par une analyse de la concordance des mesures réalisées (i) par le même observateur à deux moments successifs d'un même jour lors de la série A et (ii) par les observateurs 1 et 2 lors de la série B. Nous avons utilisé : (i) la comparaison des prévalences d'animaux présentant une caractéristique donnée ou notes moyennes par loge et (ii) un coefficient de concordance à savoir, le kappa (K) de Cohen pondéré (données agrégées à la loge) ou, dans le cas des observations comportementales en série A, le coefficient de concordance de Lin (CCLin) (données agrégées à la ferme). Le K pondéré a été obtenu avec la fonction wkappa (package psy ; pondération quadratique) et son Intervalle de Confiance (IC) évalué par une méthode de tirage aléatoire (bootstrap ; 1 000 tirages). Le CCLin a été obtenu avec la fonction CCC (package DescTools) et son IC calculé (argument conf.level de la fonction CCC). Les indicateurs sont considérés comme validés lorsque la valeur de K/CCLin est supérieure à 0,7 et la borne basse de l'IC supérieure à 0,6 (Napolitano et al., 2005; Plesch et al., 2010).

La sensibilité et la redondance des données ont été évaluées à partir des données des 20 fermes (10 fermes de la série A (visites 1) et 10 de la série B (visites à J8-J9)). La sensibilité des indicateurs a été évaluée par une analyse descriptive des données. Les indicateurs d'état ont été considérés comme sensibles lorsque l'écart observé entre les valeurs min et max dépassent 10% de la valeur max de l'indicateur. La redondance entre les indicateurs a été évaluée à partir

de mesures de corrélation (variables quantitatives) pour les indicateurs pris 2 à 2. Pour cela, nous avons réalisé une matrice de corrélation de rang de Spearman (fonctions cor du package stats et cor.mtest du package corplot). Ils sont considérés comme redondants si les valeurs absolues des coefficients de corrélation (r) si r > 0,70.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2. Résultats

a) Répétabilité des indicateurs d'état

Les indicateurs Traces d'aliment, Halète, Yeux sales, Plumes mouillées et Lésion aux pattes satisfont nos critères de répétabilité car les résultats des évaluations successives de l'observateur sont comparables (Figure 1A/a, b, c, d, e) et les valeurs de K ou CCLin atteignent les bornes retenues (Tableau 2a). Les scores mesurés pour l'indicateur Traces d'aliment sont faibles (<0,10), avec des écarts de notes entre visites compris entre - 0,04 à + 0,08. Les prévalences mesurées pour l'indicateur Halète, varient de 8 à 34%, avec des écarts de mesures entre visites faibles (- 4 à + 6 %). Les prévalences des indicateurs Yeux sales, Plumes mouillées et Lésion aux pattes sont élevées (20 à 50 %), avec de faibles écarts (-7 à + 6 %) entre visites et des classements quasi identiques des fermes.

Les indicateurs Traces de sang, Hérissé et Blottis, ne satisfont en revanche pas nos critères de répétabilité (Figures 1B/f, g et 1h ; Tableau 2a). Si l'indicateur Traces de sang s'approche des bornes fixées, les écarts entre visites sont compris entre - 0,05 à + 0,24 points avec des différences notables dans 2 fermes/10 (Elv2 et 7). A noter que la visite 2 enregistrent majoritairement une note supérieure à la visite 1. Les prévalences de l'indicateur Hérissé varient de 13 à 30 % avec des écarts entre visites de -2 à + 10 %. Les écarts les plus importants sont observés dans 3 fermes (Elv2, 6 et 7). Les scores mesurés pour l'indicateur Blottis varient sensiblement entre visites (- 0,85 à - 0,17 points), la note de la visite 1 étant toujours supérieure (Figure 1h).

b) Reproductibilité des indicateurs d'état

Les indicateurs Halète, Yeux sales, Plumes mouillées, Lésion patte et Traces de sang satisfont nos critères de reproductibilité car les résultats des évaluations parallèles des 2 observateurs sont comparables (Figure 2B/b, c, d, e, f) et les valeurs de K atteignent les bornes retenues (Tableau 2b). Les prévalences de l'indicateur Halète sont élevées (max de 40 %) avec des écarts entre observateurs faibles (± 3 %). Les prévalences des indicateurs Yeux sales, Plumes mouillées et Lésion aux pattes varient de 5 à 35 %. Pour les indicateurs Yeux sales et Plumes mouillées, les écarts entre observateurs sont compris entre 0 et 11 %, l'observateur 2 surestimant légèrement les prévalences. Pour l'indicateur Lésion aux pattes, les mesures entre observateurs sont encore plus proches (écarts de 2 %). Pour l'indicateur Traces de sang, les écarts de notes entre observateurs peuvent être assez forts (- 0,14 à + 0,11 points). Ces écarts concernent 2 fermes/10 (Elv3 et 5). Pour l'indicateur Hérissé, dont les prévalences sont moyennes (8 à 26 %), les écarts entre observateurs sont compris entre - 4 à + 8 %. Pour l'indicateur Blottis, variant de 0,63 à 2,00, les écarts de notes entre observateurs sont faibles à modérés (- 0,31 à + 0,11 points).

L'indicateur Traces d'aliment ne satisfait en revanche pas nos critères de reproductibilité (Figure 1B/a ; Tableau 2b). Pour cet indicateur, présent dans 4 fermes/10, les notes obtenues varient de - 0,02 à + 0,17 point. Il concerne en particulier 1 ferme/10.

c) Sensibilité et redondance des indicateurs

Parmi les indicateurs d'état (Tableau 4), 3 s'expriment sous la forme d'une note moyenne à l'échelle d'une loge (Traces d'aliment, de sang, Blottis). Des traces d'aliment ont été observées dans 6 fermes/10 et cet indicateur varie de 0,95 point entre fermes. Les indicateur Traces de sang et Blottis varient respectivement de 0,54 et 2,12 points, soit des valeurs moyennes et élevées pour des indicateurs variant de 0 à 2 (Traces de sang) et de 0 à 3 (Blottis). Si la prévalence observée est faible (0,45 %), la mortalité apparait très variable entre fermes (0 à 3,80 % ; CV = 1,77) et est donc un indicateur sensible. Les mesures sur les autres indicateurs (prévalences) varient entre fermes (écarts respectifs de 0,41 ; 0,31 ; 0,31 ; 0,27 et 0,21 points), permettant une bonne discrimination. Blottis est positivement corrélé aux indicateurs Hérissé et Lésion aux pattes (r = 0,73 ; Figure 8). Le halètement est positivement corrélé à la Température intérieure de la salle de gavage (r = 0,81 ; Figure 8).

2.5. Discussion

a) Tri des indicateurs d'état selon leur qualité

Pour l'indicateur Traces d'aliment, l'écart observé entre observateurs s'explique par un écart sur une ferme (Elv9, + 0,17 point; Figure 2a). On suppose que ceci est lié à une différence d'interprétation des seuils de notation de l'indicateur. Litt *et al.* (2020) ayant montré une évolution de cet indicateur entre J5 et J9, les observateurs ont pu être confrontés à des états proches des valeurs seuils en série B, ce qui nous amène à penser que (i) les seuils de notation sont à préciser ou (ii) le moment de l'évaluation est à retarder. L'indicateur Traces de sang obtient des notes supérieures en visite 2. On peut supposer que l'apparition de saignements est liée à la visite 1. Cette hypothèse semble confirmée par le fait que les fermes avec les plus forts écarts ont les prévalences de lésions aux pattes et les notes de blotissement les plus élevées en visite 1 (Elv2, 7, 4 et 1 ; Figures 1f et h). Or une majorité (78 %) des lésions avec saignement se situent au niveau des pattes (Litt et al., 2020).

Les notes obtenues pour l'indicateur Blottis sont toujours supérieures en visite 1. Les résultats sont plus nuancés pour l'indicateur Hérissé. Le hérissement des plumes de la tête est un signal émis par l'animal dans une situation de perturbation émotionnelle, en réponse à une menace (Morris, 1956). Ces comportements

traduisent une réactivité des animaux envers le/les observateur(s). Nous supposons une habituation des animaux entre visites cohérente avec les résultats de Faure et al. (2001) qui font état d'une distance de fuite diminuant entre le test d'évitement 1 et les suivants. Ces résultats encouragent à utiliser un temps d'habituation plus important avant les mesures (ici 5 min).

Trois indicateurs (Mort, Prostré et Boiteux) relatifs à des états très dégradés, pourraient être enregistrés comme points limites. Compte tenu de la faible proportion d'animaux échantillonnés, la mortalité relevée sur la feuille d'élevage est à préférer à la mesure directe.

b) Analyse critique de la méthodologie employée

Les visites rapprochées dans le temps ont pu conduire à de réelles différences d'état/comportement entre visites posant des question liées (i) à la méthodologie de validation des indicateurs et (ii) aux recommandations pour l'évaluation en ferme. Pour dépasser la difficulté de validation des indicateurs, la répétabilité pourrait être vérifiée à partir de photos ou de vidéos comme réalisé par Geverink et al. (2009) ou Bokkers et al. (2012). Pour l'évaluation en ferme, les recommandations seraient le recours à (i) un temps d'habituation suffisant, (ii) plusieurs visites préalables à l'évaluation ou (iii) un évaluateur connu des animaux (ex : le gaveur). L'entrainement des observateurs s'est basé sur l'application de référentiels sans vérification statistique de l'accord préalable entre eux. L'amélioration de celui-ci et la mesure du niveau de concordance en fin de formation, (ex : K > 0,6, Gibbons et al., 2012 ; taux d'accord > 95 % pour chaque mesure, Abdelfattah et al., 2020) permettraient sans doute d'améliorer la reproductibilité des résultats, mais engendrerait de fortes contraintes sur le déploiement de la méthode.

c) Limites imposées par notre échantillon

Les suivis des fermes ne couvrent qu'une saison, soit des amplitudes de variation de température et d'hygrométrie faibles. Les fortes températures mobilisent beaucoup les capacités de thermorégulation des animaux pendant le gavage et modifient leur comportement. Les 20 fermes sont localisées dans le sud-ouest et plutôt représentatives de la production sous signe officiel de qualité, impactant certains paramètres liés aux cahiers des charges (ex : âge).

d) Gestion de la redondance entre indicateurs d'état

Les comportements Hérissés et Blottis constituent vraisemblablement deux réponses graduelles de peur envers l'observateur. La corrélation entre les indicateurs Blottis et Lésion aux pattes s'expliquerait par une aggravation des pododermatites d'autant plus forte que les animaux sont réactifs, réactivité favorisant l'apparition de saignements et aggravant les lésions. Ces trois indicateurs doivent donc être conservés.

CONCLUSION

Les résultats montrent que parmi les 23 indicateurs d'état mesurés, 4 (Halète, Yeux sales, Plumes mouillées et Lésion patte) sont fiables, *ie*. répétables, reproductibles, sensibles et peu redondants ; 4 (Traces d'aliment, de sang, Hérissés et Blottis), sensibles et peu redondants, ne sont pas à la fois répétables et reproductibles. La méthodologie reste à ajuster en reprécisant les seuils de notation de l'indicateur Traces d'aliment et en développant un programme de formation plus complet, permettant l'entrainement et la vérification de l'aptitude des observateurs. Le phénomène de réaction à l'observateur constaté pour certaines mesures pose une vraie question quant au protocole opératoire appliqué. Une proposition serait de tester l'application de la méthode par les gaveurs, ou de mettre en place des occasions d'habituer les animaux à l'homme avant les visites. Trois indicateurs (Mortalité, Prostré, Boiteux) pourraient être enregistrés en tant que points limites, constituant des alertes faciles à mesurer. Des mesures à d'autres saisons sur des fermes avec d'autres modes d'hébergement consolideraient la validité des références.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdelfattah, E., Vezzoli, G., Makagon, M.M., 2019. Poult. Sci. 99, 689–697.

Bignon, L., Mika, A., Mindus, C., Litt, J., Souchet, C., Bonnaud, V., Picchiottino, C., Warin, L., Dennery, G., Guesdon, V., Bouvarel, I., 2017. 12èmes JRA-JRPFG. Tours, France, 1015–1019.

Bokkers, E.A.M., de Vries, M., Antonissen, I.C.M.A., de Boer, I.J.M., 2012. Anim. Welfare 21, 307–318.

De Rosa, G., Tripali, C., Napolitano, F., Saltamacchia, F., Grasso, F., Bisegna, V., Bordi, A., 2003. Anim. Welfare 12, 625–629.

Faure, J.-M., Guémené, D., Guy, G., 2001. Anim. Res. 50, 157–164.

Geverink, N.A., Meuleman, A., Van Nuffel, A., van Steenbergen, L., Hauetkiet, V., Vermeulen, K., van Reenen, C.G., Tuyttens, F., 2009. In : Welfare Quality Reports No 10, Cardiff University, Cardiff, UK, 79–82.

Gibbons, J., Vasseur, E., Rushen, J., de Passille, A.M., 2012. Anim. Welfare 21, 379–388.

ISO, 1994. ISO 5725-1 Exactitude des résultats et méthodes de mesure https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:5725:-1:ed-1:v1:fr

ISO, 1993. ISO 3534-1, Statistique - Vocabulaire et symboles https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3534:-1:ed-1:en

Lairez, J., Feschet, P., Botreau, R., Bockstaller, C., Fortun-Lamothe, L., Bouvarel, I., Aubin, J., 2017. INRA Prod. Anim. 30, 255–268.

Lensink, B.J., van Reenen, C.G., Engel, B., Rodenburg, T.B., Veissier, I., 2003. Appl. Anim. Behav. Sci. 83, 325–330.

Litt, J., Leterrier, C., Savietto, D., Fortun-Lamothe, L., 2020. Animal 14, 1258–1269.

Marchewka, J., Estevez, I., Vezzoli, G., Ferrante, V., Makagon, M.M., 2015. Poult. Sci. 94, 7–16.

Morris, D., 1956. Behaviour 9, 75–111.

Napolitano, F., Grasso, F., Bordi, A., Tripaldi, C., Saltalamacchia, F., Pacelli, C., De Rosa, G., 2005. Italian J. of Anim. Sci. 4, 223–231.

Plesch, G., Broerkens, N., Laister, S., Winckler, C., Knierim, U., 2010. Appl. Anim. Behav. Sci. 126, 19–26.

REMERCIEMENTS :

Nous remercions les éleveurs qui nous ont accueillis pour cette étude, ainsi que le service Data'stats de l'IDELE qui nous a accompagnés dans le choix et la réalisation des analyses statistiques. Ce travail a reçu le soutien financier du programme Investissements d'Avenir géré par FranceAgrimer, et du CIFOG.

Tableau 1. Description des indicateurs sanitaires et comportementaux mesurés dans les fermes

Indicateur	Description
Traces d'aliment[1]	Traces de nourriture sur le corps du canard, la barre d'appui en face avant de la loge ou dans la fosse sous la loge
Halète[2]	Fréquence respiratoire rapide/haletante avec le bec maintenu ouvert pour la thermorégulation
Yeux sales[1]	Traces de saleté ou de peau visible en périphérie d'un œil ou des deux yeux, étendues sur plus d'1,5 cm², avec apparition possible d'un aspect croûté
Plumes mouillées[1]	Plumes apparaissant humides et/ou grasses sur plus de 50 % du corps observé en vue dorsale
Lésion aux pattes[1]	Lésion ulcéreuse noircie , croutée, granuleuse, saignant ou non, visible sur la totalité de la partie de l'arrière d'un coussinet de taille normale ou sur une partie de l'arrière d'un coussinet gonflé
Traces de sang[1]	Traces de sang dans la loge, sur le corps du canard ou dans la fosse sous la loge
Hérissé[1]	Plumes de la tête dressées, qui forment une crête entre le haut du bec et le haut de l'œil
Blottis[1]	Réaction des animaux à l'approche de l'observateur

[1] Indicateur de santé mesuré sur la loge située devant l'observateur ; [2] Indicateur comportemental mesuré sur la loge opposée à la loge précédente ; [3] Indicateur de santé relevé sur la feuille d'élevage

Tableau 2. Valeurs et intervalles de confiance (IC) des coefficients kappa de Cohen (K) ou de concordance de Lin (CC_{Lin}) mesurant la concordance des données a) en visites 1 et 2 et b) par les observateurs 1 et 2

a) Indicateurs sanitaires	Valeur de K	IC de K	Caractère répétable
Traces d'aliment	0,81	[0,68 ; 0,92]	*
Yeux sales	0,72	[0,63 ; 0,78]	*
Plumes mouillées	0,84	[0,80 ; 0,88]	*
Lésion aux pattes	0,71	[0,64 ; 0,77]	*
Traces de sang	0,69	[0,55 ; 0,79]	
Indicateurs comportementaux	**Valeur de CC_{Lin}**	**IC de CC_{Lin}**	**Caractère répétable**
Halète	0,93	[0,75 ; 0,98]	*
Hérissé	0,44	[-0,05 ; 0,75]	
Blottis	0,33	[0,06 ; 0,56]	

b) Indicateur	Valeur de K	IC de K	Caractère reproductible
Traces d'aliment	0,63	[0,37-0,81]	
Halète	0,91	[0,88-0,93]	*
Yeux sales	0,75	[0,70-0,79]	*
Plumes mouillées	0,87	[0,84-0,90]	*
Lésion patte	0,77	[0,72-0,81]	*
Traces de sang	0,72	[0,62-0,80]	*
Hérissés	0,71	[0,64-0,77]	*
Blottis	0,79	[0,74-0,84]	*

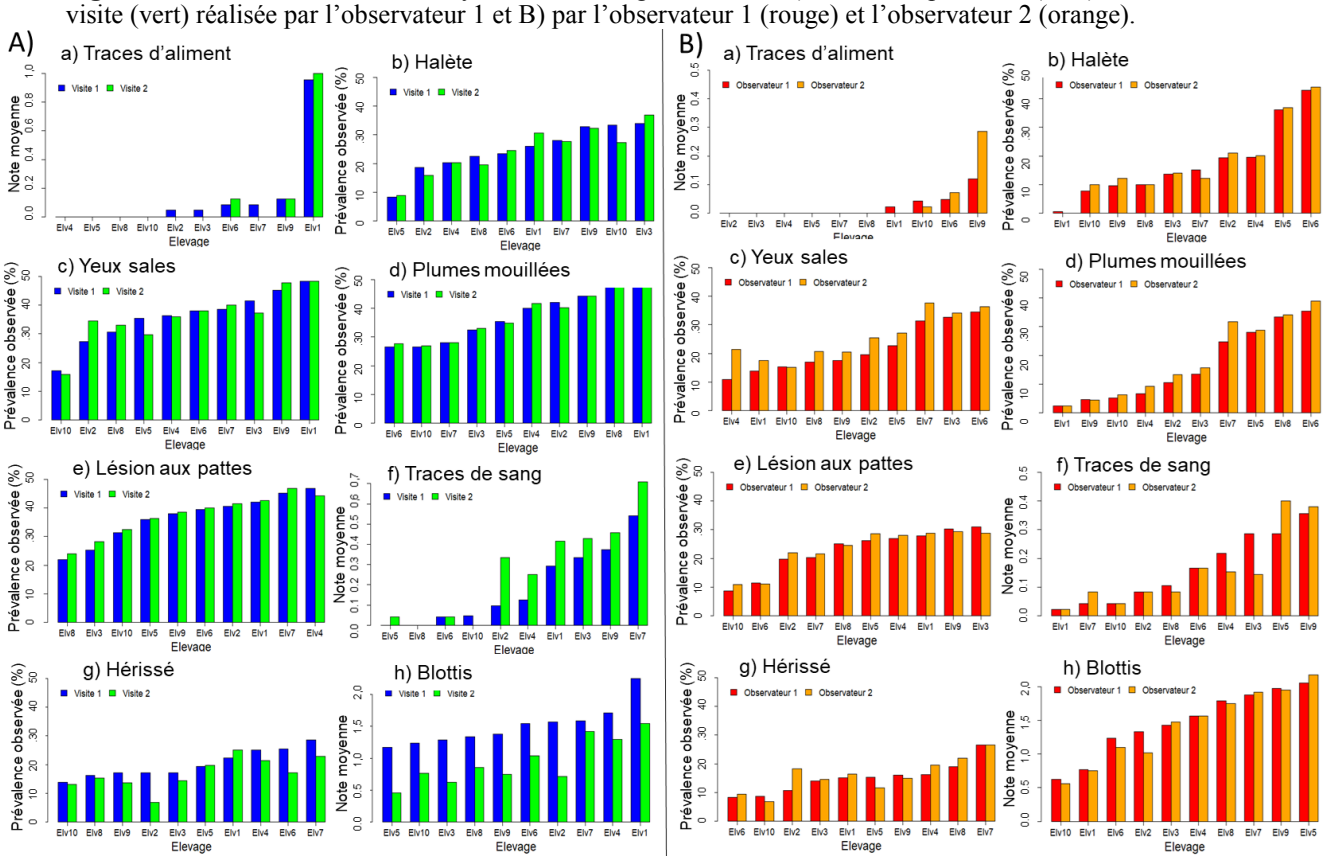
* : indicateur dont la valeur de K ou de CC_{Lin} est > à 0,7 et dont la borne basse de l'IC de K/CC_{Lin} est > à 0,6

Tableau 3 : Prévalences ou notes moyennes des indicateurs d'état dans les 20 fermes à J8-J9

Indicateurs	Type	Moyenne	Ecart-type	Médiane	Minimum	Maximum	Caractère sensible
Traces d'aliment	Note [0 ; 3]	0,10	0,21	0,05	0,00	0,96	*
Halète	Prévalence [0 ; 1]	0,27	0,11	0,25	0,08	0,49	*
Mortalité[1]	Prévalence (%)	0,45	0.80	0,25	0,00	3,80	*
Yeux sales	Prévalence [0 ; 1]	0,32	0,08	0,32	0,17	0,48	*
Plumes mouillées	Prévalence [0 ; 1]	0,34	0,08	0,34	0,19	0,50	*
Lésion patte	Prévalence [0 ; 1]	0,32	0,08	0,31	0,20	0,47	*
Traces de sang	Note [0 ; 2]	0,12	0,15	0,06	0,00	0,54	*
Hérissé	Prévalence [0 ; 1]	0,18	0,05	0,17	0,08	0,29	*
Blottis	Note [0 ; 3]	1,16	0,47	1,20	0,13	2,25	*

[1] Indicateur de santé relevé sur la feuille d'élevage ; * Indicateur dont l'écart entre les valeurs min et max > 10% de la valeur max de l'indicateur

Figure 1 : Prévalences ou notes moyennes d'une loge mesurées A) lors de la première (bleu) et de la seconde visite (vert) réalisée par l'observateur 1 et B) par l'observateur 1 (rouge) et l'observateur 2 (orange).



SELECTION D'UN PANEL D'INDICATEURS POUR L'EVALUATION EN FERME DE L'ETAT DES CANARDS MULARDS EN PHASE D'ENGRAISSEMENT



Litt Joanna[1]

Laborde Clément[1], Leterrier Christine[2], Fortun-Lamothe Laurence[3]

litt@itavi.asso.fr



[1]*Institut Technique de l'Aviculture, Agrocampus, 1003 Allée Jean d'Arcet, 40280 Haut Mauco,*

[2]*UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, Centre Val de Loire, 37380 Nouzilly,*

[3]*GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, ENVT, 31326 Castanet Tolosan*

Contexte

Une étude précédente (Litt *et al.*, 2020) a permis d'établir un corpus de 13 indicateurs sensibles à des variations d'état du canard lors du gavage en conditions expérimentales, parmi 23 indicateurs testés. Avant de recommander leur utilisation, il convient d'en vérifier les qualités lors d'une utilisation en ferme commerciale.

Objectif de l'étude

Valider la répétabilité, la reproductibilité, la sensibilité et la faible redondance des indicateurs en ferme

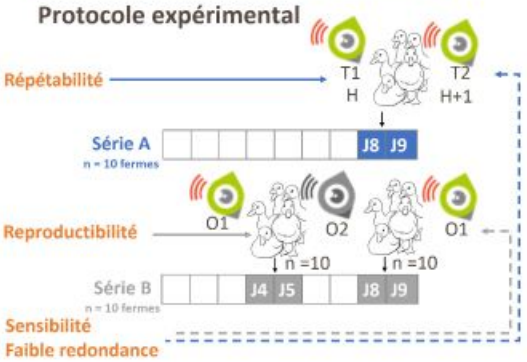
Répétabilité, reproductibilité : Observe-t-on une bonne étroitesse d'accord entre des résultats obtenus sous différentes conditions (répétabilité : 2 observateurs différents ; reproductibilité : deux moment différents) ?



Sensibilité, faible redondance : Observe-ton une variabilité suffisante et **un faible lien entre indicateurs** en ferme **?**

Matériel et méthode

Protocole expérimental



Indicateurs mesurés (23)



Analyses statistiques

Répétabilité et reproductibilité (concordance)

Comparaison graphique

+

Kappa de Cohen (K) pondéré ou **Coefficient de concordance de Lin**

Indicateur validé si K ou CCLin > 0,7 et borne basse de l'intervalle de confiance > 0,6 (Napolitano et al., 2005; Plesch et al., 2010)

Sensibilité (variabilité)

Indicateur validé écart min/max > 10% valeur maximale

Faible redondance (lien/corrélation)

Corrélation de Spearman

Indicateur redondant si r > 0,70

Résultats

Un examen des différentes qualités pour chaque indicateur

ex : indicateur Blottis

Répétabilité ✗



CCLin = 0,33
Intervalle de confiance = [0,06 ; 0,56]

Reproductibilité ✓



CCLin = 0,79
Intervalle de confiance = [0,74 ; 0,84]

Sensibilité ✓

Faible redondance ✓

Hérissé : r = 0,73
Lésion aux pattes : r = 0,73

Indicateur	Répétabilité	Reproductibilité	Sensibilité	Faible redondance
Halète	✓	✓	✓	Température intérieure salle r = 0,81 ✓
Yeux sales	✓	✓	✓	Fréquence nettoyage de l'abreuvoir r = -0,71 ✓
Plumes mouillées	✓	✓	✓	✓
Lésion aux pattes	✓	✓	✓	Blottis : r = 0,73 ✓
Traces d'aliment	✓	✗	✓	✓
Traces de sang	✓	✓	✓	✓
Hérissé	✗	✓	✓	Blottis : r = 0,73 ✓
Blottis	✗	✓	✓	Hérissé : r = 0,73 Lésion aux pattes : r = 0,73 ✓

14 indicateurs avec une prévalence < 3 % dans les 20 fermes ont été exclus de l'analyse, 1 indicateur relevé sur la feuille d'élevage

3 indicateurs (Mort, Prostré, Boiteux) relatifs à des états très dégradés

Parmi les indicateurs mesurés :

- 4 (Halète, Yeux sales, Plumes mouillées et Lésion patte) sont répétables, reproductibles, sensibles et peu redondants
- 4 (Traces d'aliment, de sang, Hérissés et Blottis), sensibles et peu redondants, ne sont pas à la fois répétables et reproductibles
- 3 (Mort, Prostré, Boiteux) pourraient être enregistrés en tant que points limites, constituant des alertes faciles à mesurer

Perspectives et conclusion

- Des seuils de notation à préciser (Traces d'aliment)
- Un programme de formation plus complet à développer, permettant l'entrainement et la vérification de l'aptitude des observateurs
- Des occasions d'habituer les animaux à l'homme avant les visites si possible à mettre en place
- Des mesures à d'autres saisons et dans d'autres modes d'hébergement pour consolider la validité des références

Un panel de 11 indicateurs utilisables relatifs aux 4 principes du bien-être animal qui pourra être complété par des indicateurs liés à l'environnement et aux pratiques d'élevage.

Litt, J., Leterrier, C., Savietto, D., Fortun-Lamothe, L., 2020. Animal 14, 1258–1269.
Napolitano, F., Grasso, F., Bordi, A., Tripaldi, C., Saltalamacchia, F., Pacelli, C., De Rosa, G., 2005. Italian J. of Anim. Sci. 4, 223–231.
Plesch, G., Broerkens, N., Laister, S., Winckler, C., Knierim, U., 2010. Appl. Anim. Behav. Sci. 126, 19–26

Financeurs

l'Europe s'engage en France
CIFOG
FranceAgriMer
Investissements d'avenir

Partenaires

INRAE

LE CHALLENGE NUTRITIONNEL JEÛNE/ REALIMENTATION : UN NOUVEAU MODELE D'ETUDE DU METABOLISME HEPATIQUE CHEZ LE CANARD MULARD

Andrieux Charlotte[1], Biasutti Sandra[2], Michaël Marchand[1], Morisson Mireille[3], Coustham Vincent[1], Panserat Stéphane[1], Houssier Marianne[1]

[1]Univ Pau & Pays Adour, E2S UPPA, INRAE, UMR 1419, Nutrition, Métabolisme, Aquaculture, Saint Pée sur Nivelle, 64310, France

[2]Univ Pau & Pays Adour, E2S UPPA, IUT Génie Biologique, 40000 Mont de Marsan, France

[3]GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31326 Castanet Tolosan, France

charlotte.andrieux@univ-pau.fr

RÉSUMÉ

La réalimentation après une période de mise à jeun stimule de nombreuses voies métaboliques dans le foie de divers animaux. L'utilisation de cette approche chez le canard mulard pourrait être particulièrement intéressante dans l'étude des mécanismes d'optimisation de la production de foie gras. Le challenge alimentaire que représente le gavage pourrait ainsi être remplacé par un protocole de « jeûne/ réalimentation » permettant de mesurer des différences métaboliques au niveau hépatique, lors des phases expérimentales visant à optimiser la réponse métabolique des animaux.

Cette étude porte sur la réponse métabolique hépatique de canards mulard ayant été soumis à une série de jeûne/réalimentation (23h de jeûne/1h de réalimentation quotidienne), pendant 4 semaines. Lors du dernier cycle, 15 canards ont été abattus à la fin de la période de jeûne (0), puis entre 10 et 15 canards après 1, 2 et 4h après la prise alimentaire (1h, 2h, 4h). Des mesures zootechniques, des dosages plasmatiques, et des coupes histologiques de foie ont été réalisées. Nous avons mis en évidence une hausse significative du poids de foie et du contenu en glycogène entre 0 et 2h, ainsi que des variations du cholestérol, des acides gras libres et des triglycérides plasmatiques après réalimentation. En conclusion, il a pu être montré que ce protocole permet de visualiser des réponses rapides du métabolisme énergétique au niveau hépatique chez le canard mulard, confirmant l'intérêt de cette approche comme modèle d'étude dans le contexte de travaux cherchant l'amélioration de la production de foie gras.

ABSTRACT

The fasting refeeding challenge: a new model for the study of hepatic metabolism in mule duck

Refeeding after a fasting period stimulates several liver metabolic pathways in animals. The use of this tool in the mule duck might be interesting to study optimization mechanisms of *foie gras* production. The nutritional challenge represented by the overfeeding could be replaced by a fasting /refeeding protocol. This protocol allows to measure hepatic metabolism differences during trials targeting animal metabolic response optimization.

This study focuses on hepatic metabolism response of mule ducks subjected to a series of fasting/ refeeding cycles (23h of fasting/1h of refeeding), for 4 weeks. At the last cycle, 15 ducks have been slaughtered after the end of the fasting (0), and between 10 and 15 ducks after 1h, 2h and 4h following the refeeding (1h, 2h and 4h). Zootechnical measurements, plasmatic analyzes and liver histological sections have been done. We highlighted a significant increase in liver weight, and glycogen content between 0 and 2h in addition to plasmatic variations of cholesterol, non-esterified fatty acids and triglycerides after refeeding. To conclude, this protocol allows to visualize quick hepatic metabolism responses in the mule duck, confirming the interest of this approach as a study model to improve *foie gras* production.

INTRODUCTION

La réalimentation des animaux, après une période de mise à jeun, permet de mesurer les réponses métaboliques nutritionnelles de différents organes (Palou *et al.*, 2008; Fujita *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2021). Ces deux états nutritionnels engendrent des réponses métaboliques antagonistes. La restriction alimentaire force le métabolisme à puiser dans les réserves énergétiques en hydrolysant le glycogène en glucose, et les triglycérides (TG) en acides gras libres (AGL). *A contrario*, l'alimentation fournit de l'énergie en grande partie sous la forme de glucose qui en cas de surplus peut être stocké dans les adipocytes sous forme de TG et dans le foie sous forme de glycogène chez les mammifères (Palou *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2021). Chez le rat, le foie est le premier organe à répondre au jeûne qui entraine une baisse significative de son poids en quelques heures, parallèlement à une baisse de la lipogenèse et une hausse du catabolisme des lipides et des glucides (Palou *et al.*, 2008). Ces voies de signalisation sont inversées quelques heures après la réalimentation, et le poids de foie revient à son niveau de base.
Ces voies métaboliques sont également stimulées par une réalimentation chez les volailles (Goldman *et al.*, 1985; Krestel-Rickert *et al.*, 1986; Goodridge *et al.*, 1989) et également durant le gavage chez les palmipèdes (Tavernier, Ricaud, Bernadet, Davail *et al.*, 2017; Pioche *et al.*, 2020). Ces animaux migrateurs ont pour particularité de stocker le surplus d'énergie apporté par leur alimentation, essentiellement dans le foie lors de la préparation aux longs voyages. Ils sont donc depuis plus de deux millénaires élevés pour leur capacité à produire du foie gras, dont la méthode de production nécessite aujourd'hui un gavage de deux repas par jour, durant environ 11 jours (Baéza *et al.*, 2013).
Très peu d'études ont mesuré l'ensemble des modifications métaboliques au niveau du foie (en termes de composition, structure et variation d'expression génétique) des palmipèdes, lors d'une réalimentation suivant une période de jeûne. Au contraire, ces modifications métaboliques et structurelles sont particulièrement bien décrites depuis de nombreuses années dans le contexte du gavage (Hermier *et al.*, 2003; Davail *et al.*, 2003; Benard *et al.*, 2006; Théron *et al.*, 2011; Tavernier *et al.*, 2016; Tavernier, Ricaud, Bernadet, Gontier *et al.*, 2017; Tavernier, Ricaud, Bernadet, Davail *et al.*, 2017). Par ailleurs, nous tentons d'optimiser la modulation précoce des voies métaboliques par des manipulations thermiques précoces afin d'améliorer les performances de production de foie gras mais ceci nécessite de gaver les animaux afin de mesurer la réponse physiologique réelle (Massimino *et al.*, 2019, 2021).
Si nous parvenions à montrer que des voies métaboliques hépatiques similaires sont stimulées lors d'une réalimentation suivant une période jeûne, alors il serait possible de concevoir un protocole simple afin d'étudier des mécanismes d'optimisation de la réponse métabolique hépatique face à un challenge alimentaire, sans gaver les animaux. Ceci nous permettrait d'accélérer la compréhension des mécanismes à l'œuvre lors des phases expérimentales. En effet, le challenge alimentaire de jeûne/réalimentation pourrait se réduire à un seul cycle se déroulant donc sur une période courte, et sur un nombre d'animaux réduit (la réponse moléculaire étant moins variable que l'engraissement du foie par gavage). De plus, ce modèle permettrait de respecter pleinement l'objectif de réduction mais également de raffinement (deux des 3R) du bien-être animal nécessaire pour satisfaire la demande sociétale croissante d'éthique en expérimentation animale, par la suppression du gavage lors des phases expérimentales.

Dans cette étude, nous avons donc mesuré les impacts sur la structure, la composition et les voies métaboliques du foie lors d'un challenge jeûne/réalimentation chez le canard mulard.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Conduite d'élevage

Un total de 150 canetons mâles (génotype H85 de la compagnie Grimaud Frères Sélection, Roussay en France) a été élevé en bâtiment chauffé avec un aliment de démarrage *ad libitum* jusqu'à 4 semaines, puis un aliment de croissance *ad libitum* jusqu'à 7 semaines et une alimentation rationnée une heure par jour jusqu'à la fin de l'essai (11 semaines). De la semaine 7 à la semaine 11, les animaux ont été soumis à une série de 26 mises à jeun/ réalimentation. Les consommations quotidiennes ont été déterminées collectivement jusqu'à la fin de l'essai.
A l'âge de 76 jours (11ème semaine), 55 animaux ont été abattus en différents points du cycle de jeûne/réalimentation. Lors de la 27ème mise à jeun, 15 animaux ont été abattus à la fin des 23h de jeûne (0), puis 15 animaux 1h (1h), 2h (2h) et 10 animaux 4h après la fin de la réalimentation (4h), afin d'effectuer des mesures zootechniques et de prélever des échantillons de foie et de plasma.

1.2. Mesures et prélèvements

Les poids de foie ont été pesés à la fin de la dernière période de jeun (0), 1 (1h), 2 (2h) et 4 heures après la dernière réalimentation (4h) pour 10 à 15 canards. Des échantillons de foie ont été collectés à la fin de la période de jeûne puis 4h après la réalimentation pour des analyses histologiques ainsi que du plasma à la fin

de la période de jeûne et 2 heures après la réalimentation et conservés à -20°C.

1.3. Histologie du foie

Les échantillons de foie ont été fixés au formaldéhyde (4 %) pendant 24h, puis déshydratés par des bains successifs d'éthanol de concentration croissante, puis de xylène avant d'être inclus en paraffine. Les coupes de foie sont d'une épaisseur variant de 7 à 10µm et sont réalisées sur des lames KNITELL (rodées 90°C, marge dépolie, x50x76x26mm).
La coloration des coupes a été réalisée en combinant deux méthodes de coloration : PAS (Periodic Acid Schiff) puis HE (Hématoxyline Eosin).
Les mesures de taille cellulaire et de nombre de noyaux par µm² ont été effectuées sur 5 foies provenant d'individus différents pour chacun des groupes. Pour chaque foie, deux lames ont été utilisées pour réaliser entre 4 et 6 comptages (sur chacune des lames) sur des zones différentes. Les statistiques ont été réalisées sur la moyenne des comptages de chacune des lames pour chaque individu, soit 10 mesures pour chaque groupe.

1.4. Dosages plasmatiques

Les plasmas ont été préparés par centrifugation à 2 000 g pendant 10 min à 4°C des sangs collectés à 0 et 2h. Le glucose, les triglycérides, le cholestérol et les acides gras libres ont été quantifiés par la méthode colorimétrique via les kits enzymatiques adéquats (Glucose GOD-POD, SOBIODA ; Triglycerides GPO POD, SOBIODA ; Cholesterol LD M, SOBIODA, NEFA HR2, Wako Richmond, United States).

1.4. Composition énergétique du foie

Les lipides totaux ont été extraits à partir de 1,0 g de tissu de foie, prélevés à 0 et 4h pour les deux traitements, par homogénéisation dans le chloroforme/ méthanol 2 :1 (v/v) et mesurés par gravimétrie en suivant la méthode de Folch (Folch *et al.*, 1957).
Le glycogène présent dans le foie a été mesuré à 0 et 2h. Le glucose libre est mesuré à partir de 100 mg de tissu broyé, puis le glycogène est hydrolysé par du KOH, chauffé à 100°C durant 2h30. Les molécules de glucose libre et de glucose total ont été dosées en utilisant la même méthode que celle du dosage du glucose dans le sang. Le glycogène présent dans le foie correspond à la différence entre le glucose total et le glucose libre, chacun en mg de glucose par g de foie.

1.5. Analyses statistiques

Les données de concentrations plasmatiques, de taille et de nombre de cellules sont comparées à l'aide du test de Student si la normalité et l'homoscédasticité des données sont respectées, sinon un test de Wilcoxon est réalisé. Pour les données de poids de foie, une ANOVA une voie est réalisée. Toutes les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel Rstudio (3.6.2).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. La réalimentation modifie la structure et la composition énergétique du foie

Nous avons mesuré, 4h après la réalimentation, une hausse du poids de foie, passant de 67 g à 96 g (**figure 1**). Cette augmentation est progressive et est visible dès 2h après la réalimentation, ce qui montre la rapidité de la réponse hépatique du canard mulard dans un contexte de challenge alimentaire. Cette hausse de poids est concomitante à une augmentation de la taille des cellules hépatiques, passant de 100 à 140 μm^3 entre 0 et 4h et confirmée par une baisse du nombre de noyaux par unité de surface passant de $4{,}6x10^{-4}$ à $2{,}96x10^{-4}$ entre 0 et 4h (**Figure 2**).

D'après différentes études chez les mammifères ou les volailles, la hausse de poids de foie observée après une période de réalimentation pourrait être attribuée à deux facteurs principaux : une remise en réserve du glycogène mais également à une synthèse de lipides (Goodridge, 1968; Leveille *et al.*, 1975; Donaldson, 1990; De Beer *et al.*, 2007; Palou *et al.*, 2008; Bazhan *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2021).
Pour comprendre à quoi était due la hausse du poids de foie chez nos canards mulards, nous avons donc mesuré le contenu en glycogène et en lipides totaux, 2h et 4h respectivement après la réalimentation. La **Figure 3** nous montre qu'entre 0 et 2h, le glycogène augmente significativement dans les cellules hépatiques, passant de 13 à 82 mg de glycogène/ g de foie (soit de 1,3 % à 8,2 %), tandis que la part des lipides totaux ne varie pas et reste autour de 6,0 % quel que soit le statut alimentaire.

Dans notre étude, la différence de poids de foie après la réalimentation semble donc essentiellement liée à la quantité de glycogène de nouveau stocké dans le foie. Toutefois, une étude réalisée en 2007 chez le poulet a montré que la hausse de la quantité de lipides hépatiques devenait significative près de 12h après la réalimentation (De Beer *et al.*, 2007). D'autres études, plus nombreuses, ont montré que la stimulation de l'expression des gènes impliqués dans la lipogenèse après une réalimentation pouvait avoir lieu bien plus tôt (Donaldson, 1990; Palou *et al.*, 2008; Bazhan *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2021). Ces données suggèrent donc l'existence d'un décalage entre l'activation des

voies métaboliques et la concrétisation par une hausse de la quantité de lipides hépatiques mesurable après une réalimentation. D'autre part, dans notre étude la quantité d'aliments ingérées lors du repas était restreinte, notamment par le temps d'accès à la mangeoire, limité à 1h, limitant d'autant la réponse lipidique hépatique.
Dans l'objectif de mesurer un engraissement du foie dans ce modèle, il serait donc intéressant de tester des conditions de réalimentation plus longues et des prélèvements plus éloignés du jeûne.
Nous projetons également de mesurer l'activation des gènes hépatiques impliqués dans les voies métaboliques de stockage, de catabolisme et de transport au cours du temps après une réalimentation, afin d'avoir une idée précise de la cinétique de réponse à ce challenge alimentaire dans le foie des canards.

2.2. Des biomarqueurs plasmatiques correspondant à la réponse hépatique lipidique

Lors du gavage, la prise alimentaire prolongée entraine une hausse de la production des TG hépatiques, exportés vers les tissus périphériques et entrainant donc une hausse de leur taux plasmatique visible dès le 4ème repas, atteignant les 5 g/L à la fin de la stimulation, parallèlement à une baisse des AGL (Tavernier *et al.*, 2016; Tavernier, Ricaud, Bernadet, Gontier *et al.*, 2017).
Par ailleurs, il a été montré que la réalimentation après une période de jeûne permet aussi la production de TG par le foie pour une redistribution et un stockage vers les tissus périphériques, que ce soit chez les mammifères ou les poulets (Leveille *et al.*, 1975; Palou *et al.*, 2008). Cette activité hépatique permet donc la production et l'exportation des TG, entrainant alors une hausse de leur taux plasmatique, parallèlement à une baisse des AGL.
Nous nous sommes donc intéressés à ces paramètres plasmatiques au cours de notre expérience de jeune/réalimentation chez le canard mulard. Les résultats présentés dans les **Figures 4A et 4B** nous montrent que les AGL diminuent significativement, passant de 0,17 à 0,09 g/L entre 0 et 2h, tandis que les TG augmentent significativement 2h après la réalimentation en atteignant les 2,09 g/L contre 0,81 g/L à la fin de la mise à jeun. Ces résultats confirment donc la modification du métabolisme lipidique hépatique chez le canard suite à une réalimentation, dans des proportions différentes mais une orientation similaire à ce qui est mesuré lors du gavage.
Les taux de glucose (GLU) et de cholestérol (Chol) quant à eux restent stables, autour de 2,3 g/L et 2,65 g/L respectivement, quel que soit le statut alimentaire.

La concentration plasmatique basale du glucose chez les volailles est environ deux fois supérieure à celle des mammifères liée à une meilleure gestion de l'hyperglycémie (Leveille *et al.*, 1975), malgré une réponse à l'insuline exogène normale (Gontier 2013). Au cours de la période de gavage chez les canards mulards, la concentration plasmatique de glucose reste stable entre 2,18 et 2,59 g/L (Berradi *et al.*, 2004). Même s'il a été montré que le glucose plasmatique présente un faible pic de concentration 1 heure après le dernier repas, passant de 2,3 g/L à 2,9 g/L cette différence n'est plus significative dès la deuxième heure suivant ce repas (Tavernier, Ricaud, Bernadet, Davail *et al.*, 2017). Ces données suggèrent que la glycémie élevée du canard, gavé ou non, n'est pas très sensible à l'ingestion d'un repas ou que son adaptation est très rapide et donc rarement mesurée. Nos résultats concernant les taux plasmatiques de glucose à la fin de la période de jeûne et 2h après la réalimentation confirment donc la faible modulation de ce paramètre lors d'un challenge alimentaire (**Figure 4C**).

Enfin, le cholestérol plasmatique semble stable lorsque les animaux sont réalimentés (**Figure 4D**). Au contraire, lors d'un challenge comme le gavage, une hausse significative du cholestérol plasmatique est observée (Hermier *et al.*, 2003; Marie-Etancelin *et al.*, 2011; Massimino *et al.*, 2019). Toutefois, cette hausse a été montrée comme fortement corrélée au poids, et donc à l'engraissement du foie au cours du gavage (Pioche *et al.*, 2020). Il n'est donc pas surprenant de ne pas mesurer de variation de cholestérol plasmatique dans notre étude, n'ayant pas mesuré de variation du taux de lipides hépatiques. Il parait donc indispensable de trouver un modèle de jeûne/réalimentation permettant de mesurer une hausse de la quantité de lipides dans le foie, afin de pouvoir utiliser ce challenge comme un modèle expérimental d'étude des mécanismes métaboliques en œuvre lors du gavage.

CONCLUSION

Cette première étude nous a permis de mettre en évidence des réponses rapides du métabolisme hépatique lors du challenge nutritionnel de jeûne/réalimentation chez le canard mulard. Les premières réponses mesurées mettent en évidence une activation du métabolisme glucidique hépatique, par une hausse de la quantité de glycogène mais également lipidique, par les modulations plasmatiques des TG et AGL.

Lors de la production de foie gras, le gavage induit également une hausse du métabolisme glucidique (synthèse de glycogène) puis lipidique (hausse de la synthèse des lipides) (Lo *et al.*, 2017; Bonnefont *et al.*, 2019). Ces modulations métaboliques sont mesurables également au niveau plasmatique, avec une hausse des TG parallèlement à une baisse des AGL.

Il semble donc que de nombreuses voies métaboliques hépatiques communes soient activées lorsque les canards sont gavés pour la production de foie gras, et lors d'un challenge de jeûne/réalimentation. Cette constatation nous amène donc à suggérer que le modèle jeûne/réalimentation, bien que largement améliorable, pourrait nous permettre d'accélérer les études d'optimisation de production du foie gras. En effet, les expérimentations ayant pour objectif de moduler la réponse métabolique des canards dans l'objectif d'optimiser l'engraissement du foie, nécessitent aujourd'hui de gaver les animaux afin de mesurer la réponse physiologique réelle. Toutefois, si nous parvenions à trouver un protocole de jeûne/ réalimentation qui reproduit le plus fidèlement possible l'activation de ces voies métaboliques (au niveau moléculaire, mais également physiologique avec une hausse du glycogène et des lipides hépatiques), nous pourrions alors tester de nombreuses hypothèses de façons plus rapide et plus éthiquement valorisables.

En conclusion, nous suggérons que le protocole « jeûne/réalimentation » pourrait être utilisé comme modèle expérimental pour étudier les mécanismes mis en jeu lors de la production de foie gras et leur possible optimisation par des mécanismes de programmation métabolique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Baéza, E., Marie-Etancelin, C., Davail, S. & Diot, C. (2013). *Prod. Anim.*

Bazhan, N., Jakovleva, T., Feofanova, N., Denisova, E., Dubinina, A., Sitnikova, N. & Makarova, E. (2019). *Cells*. **8**, 1–18.

De Beer, M., McMurtry, J. P., Brocht, D. M. & Coon, C. N. (2007). *Poult. Sci.* **86**, 1726–1738.

Benard, P. G., Bengone, T., Prehn, D., DURAND, S., Labie, C. & Bernard, P. (2006). *Bull. l'académie Des Vétérinaires Fr.* 43–55.

Berradi, H., Guy, G. & Rideau, N. (2004). *Poult. Sci.* **83**, 161–168.

Bonnefont, C. M. D., Molette, C., Lavigne, F., Manse, H., Bravo, C., Lo, B., Rémignon, H., Arroyo, J. & Bouillier-Oudot, M. (2019). *Poult. Sci.* **98**, 5724–5733.

Chen, Z., Xing, Y., Fan, X., Tongjun, L., Zhao, M., Liu, L., Hu, X., Cui, H., Geng, T. & Gong, D. (2021). *J. Poult. Sci.*

Davail, S., Rideau, N., Guy, G., André, J. M., Hermier, D. & Hoo-Paris, R. (2003). *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* **134**, 707–715.

Donaldson, W. E. (1990). *Poult. Sci.* **69**, 1183–1187.

Folch, J., Lees, M. & Sloane stanley, G. H. (1957). *J. Biol. Chem.* **226**, 497–509.

Fujita, S., Yamaguchi, M., Hiramoto, D., Saneyasu, T., Honda, K. & Kamisoyama, H. (2018). *J. Poult. Sci.* **55**, 269–273.

Goldman, M. J., Back, D. W. & Goodridge, A. G. (1985). *J. Biol. Chem.* **260**, 4404–4408.

Goodridge, A. G. (1968). *Biochem. J.* **108**, 667–673.

Goodridge, A. G., Carpenter, W. R., Fisch, J. E., Goldman, M. J., Kameda, K. & Stapleton, S. R. (1989). *Reprod. Nutr. Dev.* **29**, 359–375.

Hermier, D., Guy, G., Guillaumin, S., Davail, S., André, J. M. & Hoo-Paris, R. (2003). *Comp. Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol.* **135**, 663–675.

Krestel-Rickert, D. H., Baile, C. A. & Buonomo, F. C. (1986). *Physiol. Behav.* **37**, 361–363.

Leveille, G. A., Romsos, D. R., Yeh, Y.-Y. & O'Hea, E. K. (1975). *Poult. Sci.* **54**, 1075–1093.

Lo, B., Marty-gasset, N., Canlet, C., Tremblay-franco, M., Molette, C., Viala, D., Chambon, C. & Bonnefont, C. M. D. (2017). *Douzièmes Journées La Rech. Avic. Palmipèdes à Foie Gras*. 3–7.

Marie-Etancelin, C., Basso, B., Davail, S., Gontier, K., Fernandez, X., Vitezica, Z. G., Bastianelli, D., Baeza, E., Bernadet, M. D., Guy, G., Brun, J. M. & Legarra, A. (2011). *J. Anim. Sci.* **89**, 669–679.

Massimino, W., Andrieux, C., Biasutti, S., Davail, S., Bernadet, M., Pioche, T., Ricaud, K., Gontier, K., Morisson, M., Collin, A., Panserat, S. & Houssier, M. (2021). *Front. Physiol.* **12**, 1–12.

Massimino, W., Davail, S., Bernadet, M., Pioche, T., Ricaud, K., Gontier, K., Manse, H., Morisson, M., Collin, A., Panserat, S. & Houssier, M. (2019). *Fontiers Physiol.* **10**, 1–12.

Palou, M., Priego, T., Sánchez, J., Villegas, E., Rodríguez, A. M., Palou, A. & Picó, C. (2008). *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* **456**, 825–836.

Pioche, T., Skiba, F., Bernadet, M. D., Seiliez, I., Massimino, W., Houssier, M., Tavernier, A., Ricaud, K., Davail, S., Skiba-Cassy, S. & Gontier, K. (2020). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **21**, 1–9.

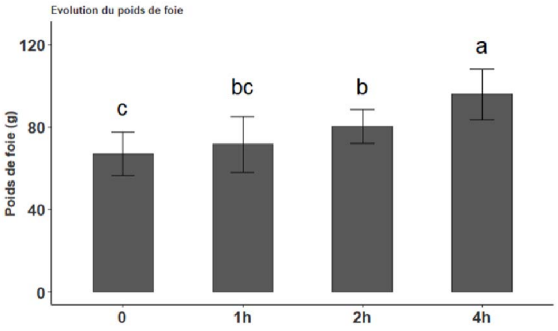
Tavernier, A., Davail, S., Ricaud, K., Bernadet, M.-D. & Gontier, K. (2016). *Mol. Cell. Biochem.* **424**, 147–161.

Tavernier, A., Ricaud, K., Bernadet, M.-D., Davail, S. & Gontier, K. (2017). *Mol. Cell. Biochem.* **430**, 127–137.

Tavernier, A., Ricaud, K., Bernadet, M.-D., Gontier, K. & Davail, S. (2017). *Mol. Cell. Biochem.* **438**, 111–121.

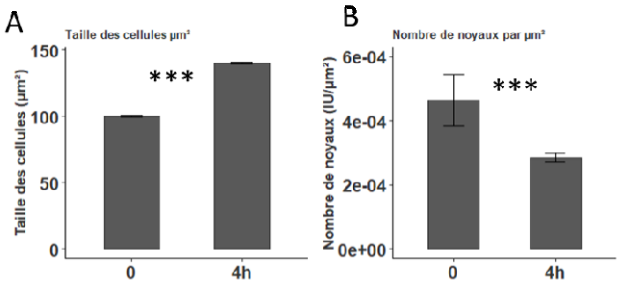
Théron, L., Astruc, T., Bouillier-Oudot, M., Molette, C., Vénien, A., Peyrin, F., Vitezica, Z. G. & Fernandez, X. (2011). *Meat Sci.* **89**, 377–383.

Figure 1 : Evolution du poids de foie en fonction de la mise à jeun et de la réalimentation



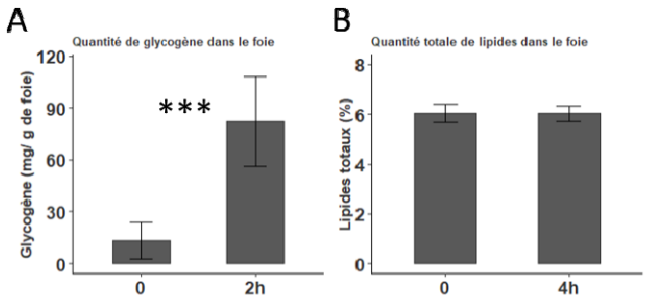
Les poids de foie sont représentés pour chacun des points de prélèvement. Une ANOVA une voie a été réalisée pour comparer les poids de foie entre les quatre prélèvements (n = 15). Les histogrammes avec des lettres différentes sont significativement différents. Entre 0 et 2h, la p value est de 0,01, entre 2 et 4h la p value est de 0,008 et entre 0 et 4h, 1 et 4h les p values sont inférieures à 0,001.

Figure 2 : Evolution du nombre de noyaux (A) et la taille des cellules (B) entre la mise à jeûne et 4 heures après la réalimentation dans le foie



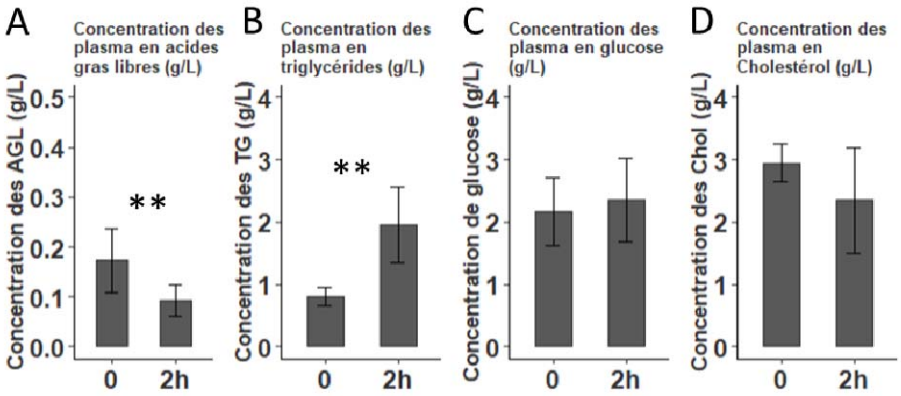
Des tests de student ont été réalisés afin de comparer les deux points de prélèvement (0 et 4h) pour la taille des cellules (n = 10) ainsi que le nombre de noyau (n = 10).

Figure 3 : Caractérisation de la composition énergétique du foie en glycogène à la fin de la période de jeûne et 2 heures après la réalimentation (A) et en lipides totaux 0 et 4 heures après la réalimentation (B)



Des tests de student ont été réalisés pour comparer les deux points de prélèvement, 0 et 2h pour le glycogène (n = 6) et 0 et 4h pour les lipides totaux (n =9).

Figure 4 : Dosages plasmatiques à la fin de la période de jeûne et 2 heures après la réalimentation pour les acides gras libres (A), les triglycérides (B), le glucose (C) et le cholestérol (D)



Des tests de student ont été réalisés pour comparer les deux points de prélèvement (0 et 2h) pour les acides gras libres, les triglycérides, le glucose et le cholestérol (n = 9).

FRACTIONNEMENT DE L'ALIMENTATION DU CANARD MULARD EN PHASE DE RATIONNEMENT
EFFETS SUR LES PERFORMANCES, L'ETAT CORPOREL ET LE COMPORTEMENT LORS DE LA MISE A L'ABRI

Bernadet Marie-Dominique[1], Hazard Azélie[1], Litt Joanna[2], Martin Xavier[1]

[1]INRAE - 1076 route de Haut-Mauco - 40280 BENQUET,
[2]ITAVI - 1003 Allée Jean d'Arcet B11 - 40280 HAUT MAUCO
azelie.hazard@inrae.fr

RÉSUMÉ

Afin de limiter le risque de propagation de l'Influenza Aviaire, les éleveurs de canards mulards peuvent être amenés à confiner leurs animaux. Ce mode d'élevage différant de l'élevage conventionnel, il est nécessaire d'en évaluer les effets. De plus, la charge alimentaire représentant jusqu'à 60% du coût de production, de nouvelles techniques d'alimentation doivent être développées pour mieux gérer la consommation, améliorer la valorisation alimentaire et limiter les facteurs de stress. Dans ce cadre, notre essai s'intéresse à l'effet de la fréquence des repas sur les performances technico-économiques et le comportement de canards confinés. Deux lots de 1600 mulards répartis en loges de 400 animaux ont reçu 230g d'aliment de 36 à 71 jours d'âge, en un (T1) ou en deux repas (T2). A 78 jours, 336 canards par traitement ont été engraissés par gavage. L'état corporel, la croissance et l'état d'engraissement ont été suivis par des pesées et des dissections. Le comportement des animaux a été évalué par un test de réaction à un bruit soudain et par notation de la facilité de gavage. La distribution en deux repas a amélioré la croissance (poids vif +3,7%) et la valorisation alimentaire (Indice de Consommation -7,5%) jusqu'à 62 jours. Ces différences se sont estompées et ont disparues par la suite, les T2 enregistrant une prise de poids deux fois moins importante. A l'issue du gavage, bien que de poids similaires, les foies des canards T2 ont eu un taux de fonte inférieur (-8,9%) ainsi qu'un poids des pièces de découpe légèrement amélioré (+4% de magret) par rapport à ceux des canards T1. Un fractionnement alimentaire permet donc d'améliorer temporairement la valorisation alimentaire et les performances technico-économiques. Il serait intéressant de trouver des voies d'amélioration pour maintenir ces gains jusqu'à la fin du gavage.

ABSTRACT
Effects of meal frequency on performances, appearance and behaviour of mule ducks housed in confinement.
In order to limit the spread of the avian influenza, Mallard duck may have to be confined. This husbandry system being different from conventional breeding, it is necessary to evaluate its effects. The feed cost can reach up to 60% of the production cost. Therefore, it makes the development of new feeding techniques necessary, in order to manage the feed consumption, to improve the food valuation and to limit the stress factors. The aim of this study is to test the effects of meal frequency on performances, appearance and behaviour of mule ducks housed in confinement. Two groups of 1600 ducks were divided into pens of 400 animals. Between 36 and 71 days of age they received 230g of feed, either in one (T1) or two meals (T2). At the age of 78 days, 336 ducks per treatment were fed by force-feeding. Growth and fattening were measure through weight and anatomical dissections. During weighing and at slaughter their body condition was noted. The behaviour was assessed with a sudden noise reaction test and by scoring the ease of force-feeding. Up to 62 days, the two-meals distribution improved growth (weight +3.7%) and food valuation (Consumption Index -7.5%). However, these differences faded and disappeared and T2 gain half the weight of T1. At the end of force-feeding, although a similar weight, the liver of T2 ducks had a lower melting rate (-8.9%) and an improved weight of the cutting pieces (+4% of duck breast). Therefore, food fractionation temporarily improves food valorisation and animal's performances. It would be interesting to find ways to maintain these gains at the end of force-feeding.

INTRODUCTION

Fractionner l'alimentation consiste à augmenter la fréquence des prises alimentaires sans modifier la quantité totale d'énergie ingérée (Allirot, 2013). Cela permet de réduire le délai interprandial, qui s'approche de 22h au sein des élevages de canards en phase de croissance, la ration alimentaire étant fréquemment distribuée le matin. Cette durée induit une perte de poids chez l'animal visible au bout de 8h qui se stabilise à partir de 16h (Sazy, 1996). De plus, après 15h de jeûne en fin de gavage, le taux de lipides dans le foie augmente, ce qui impacte sa qualité (Bonnefont *et al*., 2015). Une autre étude précise que, chez le poulet, fractionner les repas améliore la valorisation alimentaire et les animaux s'habituent rapidement à ce fractionnement alimentaire (Svihus, 2013).

Un essai réalisé en station expérimentale sur le canard, avant engraissement, a montré que pour une quantité quotidienne d'aliment donnée (220 g/j), le canard valorise mieux l'aliment lorsque la ration est distribuée en 2 repas par jour comparé à un seul (Bernadet, 2017). En effet, les canards ne recevant qu'un seul repas par jour présentaient un état d'engraissement moindre à la mise en gavage. Les poids de magret et de cuisse post gavage étaient pénalisés par le traitement alors qu'aucun effet n'était noté sur les performances en foie gras. La distribution en 2 repas par jour a amélioré l'indice de consommation. Ceci suggère qu'en limitant le temps entre les repas et donc la durée de la période de jeûne, le fractionnement induit une meilleure utilisation des nutriments énergétiques et protéiques (Bernadet, 2017, Leclerc, 1989). Des résultats contradictoires sont toutefois obtenus par Lavigne *et al.* (2017) dans un essai comparant une alimentation en 1 ou 2 repas par jour pour une quantité d'aliment non restrictive : les canards recevant 2 repas sont apparus plus légers lors de la mise en gavage (10 à 14,5% de moins).

Habituellement les canards mulards sont élevés sur parcours pendant la phase de croissance-finition. Toutefois afin de s'adapter au risque de propagation du virus Influenza Aviaire, les éleveurs doivent être en mesure de claustrer leurs animaux. Cependant, la conduite d'un élevage en confinement total a un effet délétère sur les performances techniques des animaux (poids vif, du filet et du foie gras inférieur) ainsi que leur état corporel (moins bon emplumement, plus de griffures) (Pertusa & Ponchant, 2019).

Face à ces résultats, l'objectif de cet essai, réalisé au sein de la station expérimentale d'Artiguères, est de tester sur des lots de canards plus importants (3200 animaux) et confinés, l'effet de la fréquence des repas, 1 vs. 2 pour une quantité quotidienne d'aliment donnée, sur les performances technico- économiques d'élevage et de gavage et le comportement des canards mulards mâles.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

4 x 800 canards mâles de type génétique MMG x PKL ont été répartis à l'âge d'un jour dans quatre bâtiments de type Louisiane, chacun cloisonné en 2 salles indépendantes de 80m² (pour une densité de 5 canards par m²) et gérés de manière identique. Un épointage des canetons a été réalisé au couvoir par méthode infra-rouge avant le transfert dans les bâtiments, sur litière. La litière était composée de paille broyée, distribué une fois par jour à l'aide d'une pailleuse (Dussau Méca-Pulse). Un curage intégral a été réalisé à 8 semaines d'élevage.
Jusqu'à 21 jours d'âge les animaux ont reçu un aliment de démarrage distribué en *ad libitum* (EM : 2850 Kcal, MAT : 17,5 %). Un aliment de croissance finition (EM : 2800 Kcal, MAT : 15 %) a ensuite été distribué *ad libitum* jusqu'à 36 jours d'âge puis de façon rationnée jusqu'à 71 jours (230g / canard).

De 36 à 71 jours d'âge, deux modalités ont été mises en place dans chaque bâtiment, avec une salle par modalité pour un total de 4 x 400 animaux par modalité. Le nombre de repas quotidien différenciait ces deux modalités. Une même quantité quotidienne d'aliment a été considérée, 230g/canard, et donnée soit en 1 repas par jour distribué à 7h (modalité T1) soit en 2 repas à 7h et 17h (modalité T2). La durée totale des repas était fixée à une heure pour la modalité T1 et à 2 x 30 minutes pour la modalité T2. Après la durée du repas, l'aliment restant était enlevé et pesé. Afin d'adapter les canards à ces rythmes alimentaires, la diminution de la durée des repas s'est faite progressivement, durant les 7 jours précédents l'application des traitements. Des mangeoires linéaires ont été disposées au sol (5 cm/canard) avant la mise en place des modalités afin de faciliter l'accès à l'alimentation. A partir de 71 jours la quantité d'aliment a été augmentée progressivement (jusqu'à 250 g/jour) et distribuée en un repas par jour afin d'assurer pour les deux modalités une préparation suffisante du jabot au gavage.

A 78 jours d'âge, 336 canards par traitement ont été choisis aléatoirement dans les salles d'élevage pour être mis en gavage. Les animaux étaient alors hébergés par lot de 4 canards par loge et engraissés durant 10,5 jours (21 repas). Les conditions de gavage, la courbe de gavage (doses humides de 425g avec augmentation de 38g pendant 11 repas jusqu'à un plateau à 850g pendant les 9 derniers repas) et le mélange de l'aliment (53% farine, 47% eau) étaient identiques pour tous les animaux.

1.2. Mesures expérimentales

La consommation alimentaire a été mesurée quotidiennement en élevage (suivi par salle) et bi-quotidiennement en gavage (suivi individuel). La croissance des animaux a été suivie par pesées individuelles aux âges de 34, 50, 62, 71 (fin du

rationnement) et 78 jours (mise en gavage), sur 80 à 100 canards par salle, soit 320 canards par traitement, choisis aléatoirement. Lors de la mise en place des deux modalités, tous les canards présentaient des poids similaires (1825 ± 207 g).

Afin de mesurer l'effet du traitement sur la croissance musculaire et l'état d'engraissement, des dissections anatomiques (filet, Pectoralis major, cuisse et pilon, gras abdominal) ont été réalisées à 72 (n = 89 canards par traitement) et 91 jours d'âge (n = 80 canards par traitement). Ces canards ont été choisis aléatoirement au sein de l'ensemble des bâtiments. Les autres animaux engraissés (n = 492) ont été abattus en abattoir commercial, où les performances en foies gras et magrets ont individuellement été relevées. Lors des pesées, à 34, 50, 62, 71 et 78 jours d'âge et à l'abattage à 91 jours, l'état corporel des animaux a été qualifié à l'aide des grilles établies par Litt *et al*. (2015). Ces grilles associent une note qui reflète la dégradation du critère mesuré, de 0 : absence à 2 ou 3 : très dégradé. Les pododermatites (coussinet, doigt, tarse), l'état d'emplumement dorsal et ventral, la propreté ventrale et la présence de griffures dorsales ont ainsi été relevés en phase d'élevage. L'état des ailes, du bréchet, du jabot, des tarses, la présence d'hématomes et de griffures ont été noté à l'abattage.

Le pourcentage de perte de matière (matière grasse et liquide séreux) du foie gras après pasteurisation a été calculé après abattage. Pour cela un échantillon de 60g par foie a été mis en boîte puis chauffé pendant 1 heure dans un autoclave (85°C, 0,8 bar) avant d'être stockés à 4°C une fois refroidis. Le lendemain les boîtes ont été réchauffées au bain-marie à 70°C puis ouvertes. L'échantillon de foie a été égoutté puis pesé. Le taux de fonte correspond au poids de l'échantillon égoutté divisé par le poids net de l'échantillon initial.

Le comportement des animaux a été observé à l'âge de 10 semaines par 2 opérateurs. La technique EBENE a été réalisée (Pertusa *et al.,* 2019) par observation du comportement de plusieurs groupes d'animaux depuis le sas avant l'entrée dans le bâtiment (mesure de l'occurrence des comportements couché, debout, se toilette, interaction avec des congénères …) et après l'entrée de l'observateur dans le bâtiment (ajout de la distance à l'observateur). Un test de réaction à un bruit soudain a aussi été réalisé, la soudaineté d'un évènement étant génératrice d'émotions négatives (Scherer *et al*., 2001). La réaction des animaux était quantifiée après le bruit, sur une échelle de 1 : pas de réaction à 5 : panique et entassement.

En engraissement, la facilité de gavage ressentie par le gaveur a été notée lors des 2ème, 3ème et 5ème repas de gavage. Une note de 1 à 3 était attribuée individuellement. Si le canard ne présente aucune difficulté lors de gavage la note est de 1 et au contraire s'il émet de la résistance lors de l'attrapage la note est 3.

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R Studio 1.3.1093. Les performances des animaux ont été comparées par un test t de Student, lorsque les données suivaient une loi normale (test de Shapiro) ou par des tests de Mann-Whitney et des Chi-deux.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Croissance pondérale en élevage

Jusqu'à l'âge de 62 jours, les animaux T2 présentaient une meilleure croissance que les animaux T1 (Tableau 1 : Mann-Withney P<0,001, soit un écart moyen de 116 g ou 3,7 %). Ce résultat corrobore les résultats obtenus par Bernadet (2017) où une différence dans ce sens était observée dès 53 jours (poids supérieur de 2,6%). Cette différence s'estompe toutefois par la suite, les canards T2 enregistrant une prise de poids deux fois moins grande entre 62 et 71 jours. Ce résultat peut s'expliquer en partie par l'apparition d'un coryza (maladie respiratoire) chez les T2 pouvant occulter l'effet du traitement alimentaire. Il en résulte des canards PAG de poids moyen faible quel que soit le traitement (3708 ±358 g).

L'ingéré alimentaire étant identique entre les traitements, les écarts de performances mesurées entre 35 et 63 jours semble s'accompagner d'une amélioration de l'indice de consommation (- 0,31 points) ce qui corroborerait le fait que les canards valorisent mieux l'aliment lorsque celui-ci est distribué en 2 repas. A partir de 63 jours, pour chaque traitement, les IC enregistrent de très fortes variations en fonction des bâtiments et témoignent de l'apparition du problème sanitaire. Sur la durée totale de l'élevage l'IC est identique entre modalités, il est alors difficile de conclure sur l'effet traitement (Tableau 1).

Les résultats issus de la dissection anatomique réalisée à 72 jours sur 89 canards par traitement montrent un poids de cuisse supérieur pour les canards T2 comparés à T1 (+ 5%, Test de student, P < 0,01). Le poids du filet et l'état d'engraissement ne présentent pas de différence (Test de student, P > 0,05). Ces résultats corroborent dans une moindre mesure les résultats de Bernadet (2017) où les poids de cuisse mais aussi de filet et d'état d'engraissement augmentaient avec la fréquence des repas.

2.2. Performances de gavage

Le fractionnement alimentaire, suivi de la période de relâchement alimentaire, n'impacte pas les performances de gavage en termes de mortalité (Test de Chi², P > 0,05), de qualité de la digestion (pas de différence d'ingéré, consommation réelle égale à la courbe de gavage théorique) et de performances en foie gras (Tableau 2).

Bien que de poids similaires, les foies des canards ayant reçu deux repas ont un taux de fonte inférieur (Tableau 2). La mise en gavage étant précoce, à 11 semaines, cela pourrait résulter d'une plus grande

compétition entre croissance musculaire et le développement de la stéatose hépatique, entraînant un plus faible rapport lipides/protéines et donc une détérioration du foie à la cuisson (Théron *et al*., 2013). Cela tend à se retrouver avec le poids de magrets après gavage, qui est également supérieur chez les animaux T2 (Tableau 2).

Seul le poids de magret mesuré à l'issue de la découpe commerciale présente une supériorité pondérale, de l'ordre de +16g par magret, soit +32 g de plus (+4%) pour un canard avec deux repas. Cette différence de poids pourrait aussi s'expliquer soit par un poids de canard supérieur à la mise en gavage, résultats suggérés précédemment mais n'apparaissant pas significatifs sur l'échantillon concerné, soit par un engraissement périphérique supérieur des canards au cours du gavage, résultats également non confirmés par la dissection anatomique réalisée en fin de gavage (Tableau 2).

2.3. Critères de bien-être en élevage et gavage

Observés lors de chaque pesée, les critères de bien-être mesurés ne montrent pas de différence entre traitements quel que soit l'âge. Globalement, les canards en fin d'élevage apparaissaient mal emplumés au niveau du dos : en moyenne 40 % des canards présentant au moins 50 % de peau visible au niveau du dos (note 2) ; cet aspect étant d'autant plus prononcé que les plumes étaient humides et collées. Malgré l'absence de dégriffage des canards, 95 % des canards étaient indemnes de griffure visible au niveau du dos. L'emplumement ventral était correct bien que 10% des canards présentent un état brossé plus ou moins prononcé. Par contre, les canards apparaissaient globalement sales, 46% obtenant la note 2, ce critère dépendant principalement de l'état de la litière. En ce qui concerne l'état des pattes, aucune différence n'est apparue entre traitements (Tableau 3). En fin de gavage, aucune différence n'est apparue en termes de griffures ou, d'hématomes (Test de Chi², $P > 0,05$), mais les canards T2 présentaient plus de défaut du bréchet que les canards T1 (Test du Chi², $P < 0,001$).

2.3. Comportement des canards en élevage et en gavage

Les observations comportementales en élevage ont été complexes à réaliser et n'ont pas permis de confirmer ou d'infirmer de différence de comportement. En effet, de par la surface des salles, les canards apparaissaient très réactifs et se sont entassés rendant impossible toute mesure. Ce type de comportement avait déjà été observé lors d'un précédent essai mené en claustration (Bernadet, 2017). La notation de la facilité de gavage n'a pas montré de différence entre traitement (Test de Chi², $P < 0,05$).

CONCLUSION

Dans nos conditions d'élevage, les résultats montrent que dans le cadre d'un rationnement quantitatif de 230g par canard par jour, le fractionnement alimentaire pratiqué durant la phase de croissance (de 36 à 71 jours d'âge) chez le canard mulard mâle élevé en claustration influence peu les performances zootechniques d'élevage. Durant les 20 premiers jours du traitement, la distribution de deux repas par jour améliore la croissance et la valorisation alimentaire (respectivement +116g/canard et -0,31 point par rapport aux canards n'ayant reçu qu'1 repas par jour). Cette différence s'estompe puis disparait par la suite. A l'issue du gavage, les performances en foie gras ne sont pas impactées mais le poids des pièces de découpe (magret) est par contre légèrement amélioré, pour les animaux ayant reçu 2 repas (+4%). La distribution de 2 repas par jours n'impacte par ailleurs ni l'état corporel des animaux ni leur comportement.

Il serait intéressant de trouver des voies d'amélioration afin de maintenir les gains induits par l'augmentation de la fréquence des repas sur la dernière phase d'élevage, où les différences s'estompent.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet PROSPeR porté par le GIS Palmipôle grâce au financement du MAA et du CIFOG. Les auteurs remercient les partenaires du projet (ITAVI, INRAE, ASSELDOR, CEPSO, EPLEFPA du Périgord) ainsi que l'ensemble du personnel impliqué.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Allirot X, Saulais L, Seyssel K *et al*., 2013. Physiol. Behav. (110), 169-17.
Bernadet M.-D, Gouraud P., 2017.12. Journ. Rech. Avicole et Palmipèdes à Foie Gras
Bonnefont C., El Kouba R., Travanca M. *et al*., 2015. 11. Journ. Rech.Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 5.
Lavigne F., Molette C., et al., 2017. 12. Journ. Rech. Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 1000-1004
Leclerc H. & Block E., 1989. Can. J. Anim. Sci., (69-2), 411-423.
Pertusa M., Ponchant P., et al., 2019. 13. Journ. Rech. Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 783-787.
Pertusa M., Laborde C., Tescari N., Mika A., Warin L., Litt J., 2019. La Plume du Palmipôle (6)
Sazy E. & Héraut F., 1996. 2. Journ. Rech. Palmipèdes à Foie Gras, 53
Scherer K. R., Schorr, A., & Johnstone, T. (eds.)., 2001. In: Appraisal processes in emotion: Theory, methods, research. Oxford University Press.
Svihus B., Lund V.B., Borjgen B., *et al.*, 2013. Br. Poult. Sci (54-2), 222-230.
Théron L., Bouillier-Oudot M., Etancelin C.M., et al., 2013. INRA Prod. Anim., (26-5,), 415-424

Tableau 1. Performances zootechniques moyennes (± écart-type) en élevage, croissance, valorisation alimentaire et dissection anatomique, par traitement au cours du temps (T1 : animaux ayant reçu un repas, T2 : animaux ayant reçu deux repas ; n : nombre de mesures).

	T1	T2	p[2]	Test
Croissance pondérale (g)				
Poids 34j (n=370)	1823 ± 219	1828 ± 195	ns	Mann-Whitney
Poids 50j (n=320)	2753 ± 318	2877 ± 321	***	Mann-Whitney
Poids 62j (n=320)	3231 ± 464	3368 ± 376	***	Mann-Whitney
Poids 71j (n=340)	3532 ± 384	3521 ± 358	ns	Student
Poids 78j (n=160)	3705 ± 382	3712 ± 335	ns	Student
Valorisation alimentaire (IC)				
De 35 à –63 J	4,11	3,80	---	
De 64 à 71 J	6,35	10,18	---	
De 72 à 80 J [1]	9,84	8,29	---	
IC total de 35 à 80 J [1]	5,05	5,05	---	
Dissections anatomiques à 72 Jours (en g), n=89				
Poids vifs	3577 ± 422	3659 ± 344	ns	Student
Pectoralis major	227 ± 44	234 ± 33	ns	Mann-Whitney
Peau du filet	39,4 ± 26,7	40,7 ± 28,1	ns	Mann-Whitney
Cuisse	305 ± 36	321 ± 35	**	Student
Gras abdominal	15,4 ± 11,3	15,9 ± 10,9	ns	Mann-Whitney

[1] mesures réalisées sur 3 des 4 répétitions de par des valeurs aberrantes
[2] ns : non significatif p>0,05; * : p≤0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

Tableau 2 : Performances zootechniques moyennes (± écart-type) après gavage par traitement (T1 : animaux ayant reçu un repas, T2 : animaux ayant reçu deux repas ; ; n : nombre de mesures).

	T1	T2	P[1]	Test
Test de fonte (%) n=79	37,2 ± 12,7	28,3 ± 13,8	***	Mann-Whitney
Dissections anatomiques (g)				
Foie (g)				Mann-Whitney
T1 n=244	475 ± 88	471 ± 95	ns	
T2 n=247				
Magret (g)				Mann-Whitney
T1 n=101	381 ± 48	397 ± 49	*	
T2 n=99				
Cuisse (g) n=80	409 ± 50	415 ± 37	ns	Mann-Whitney
Aiguillette (g) n=80	45,9 ± 5,9	45,6 ± 5,3	ns	Student

[1]ns : non significatif p>0,05 ; * : p≤0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

Tableau 3 : Pourcentage d'animaux ayant eu une note comprise entre 0 (absence, bon état) et 3 (état dégradé) pour chaque critère, à 78 jours en fonction du traitement

	Traitement	p Chi2[1]	0	1	2	3
Pododermatite : coussinet	T1	ns	-	97	3	0
(1/2/3)	T2		-	93	3	0
Pododermatite : doigts	T1	ns	-	81	19	0
(1/2/3)	T2		-	87	13	0
Lésions du tarse	T1	ns	76	22	2	-
(0/1/2)	T2		84	16	0	-
Emplumement ventral	T1	ns	33	56	11	-
(0/1/2)	T2		46	49	9	-
Emplumement dorsal	T1	*	6	62	32	-
(0/1/2)	T2		2	47	51	-
Griffures	T1	ns	95	4	1	-
(0/1/2)	T2		93	7	0	-
Salissure du plumage						
	T1	ns	2	47	51	-
(0 :très sale /1/2 : propre)	T2		5	53	42	-

[1]ns : non significatif ; * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; ***- : p<0,001

FRACTIONNEMENT ALIMENTAIRE ET RATIONNEMENT CHEZ LE CANARD MULARD

Effets sur les performances, l'état corporel et le comportement lors de la mise a l'abri

M-D. BERNADET[1], A. HAZARD[1], J. LITT[2], X. MARTIN[1]

[1]INRAE - 1076 route de Haut-Mauco - 40280 BENQUET, [2]ITAVI - 1003 Allée Jean d'Arcet B11 - 40280 HAUT MAUCO
Contact: azelie.hazard@inrae.fr

ASSELDOR PALMIPOLE INRAE ITAVI

INTRODUCTION

Effectuer un fractionnement alimentaire revient à augmenter le nombre de prises alimentaires (repas) sans modifier de la quantité totale d'énergie (d'aliment) ingéré.
En élevage de canards mulards les animaux traversent fréquemment des périodes de jeûne qui entraînent une perte de poids et une détérioration de la qualité de leur foie. En périodes d'Influenza aviaire s'ajoutent les effets délétères de leur claustration sur leurs performances techniques et leur état corporel. De nouvelles techniques doivent donc être développées pour mieux gérer la consommation, améliorer la valorisation alimentaire et limiter les facteurs de stress.

En ce sens, notre objectif est de comparer l'effet de la fréquence de distribution des repas en phase de rationnement -1 vs 2 repas- sur les performances technico-économiques et le comportement en élevage et en gavage de canards mulards mâles confinés.

MATERIEL & METHODES

Dispositif expérimental

T1 n= 400 x 4 — 7h-8h — 250g

T2 n= 400 x 4 — 7h-7h30 — 115g — 17h-17h30 — 115g

Mesures:

Valorisation alimentaire: *indice de consommation (IC)*

Croissance: *pesées ; dissections anatomiques*

Etat corporel: *emplumement, lésions*

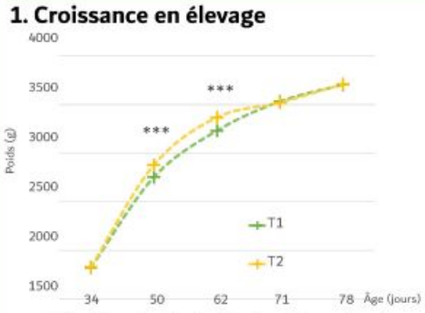
Taux de fonte du foie

Comportement: *EBENE ; tests de réaction à un bruit soudain ; facilité de gavage*

De 36 à 71 jours d'âge les animaux ont été rationnés puis la quantité d'aliment a été progressivement augmentée. A 78 jours 336 animaux par modalité ont été mis en gavage.

RESULTATS & DISCUSSION

1. Croissance en élevage



Poids (g) en fonction de l'âge des animaux (jours)

De 50 à 62 jours les animaux T2 ont une meilleure croissance que les T1.
La quantité d'aliment ingéré étant identique, cela peut refléter une meilleure valorisation de l'aliment.

Indice de consommation selon l'âge des animaux (jours)

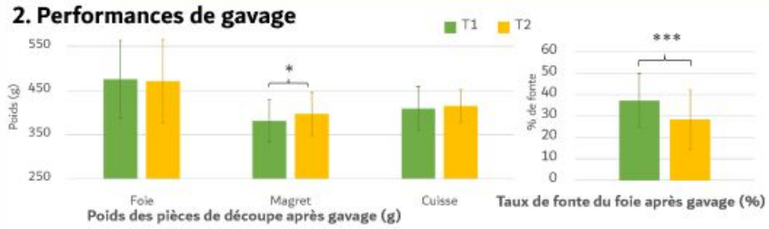
	T1	T2
35 - 63 J	4,11	3,8
64 - 71 J	6,35	10,18
72 - 80 J	9,84	8,29
IC total (35-80J)	**5,05**	**5,05**

Les premières semaines suivant la mise en place du fractionnement alimentaire l'indice de consommation des T2 diminue, ce qui va dans le sens d'une meilleure valorisation de l'aliment.

Après 62 jours l'apparition d'un problème sanitaire a entraîné une forte hétérogénéité des réponses et occulte possiblement l'effet du traitement alimentaire.

Mann-Withney: p>0,05; * : p≤0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001 Barres d'erreur: écart-type.

2. Performances de gavage



Poids des pièces de découpe après gavage (g) — Taux de fonte du foie après gavage (%)

Bien que de poids similaires, les foies des canards T2 ont un taux de fonte inférieur et un poids de magret supérieur.
La mise en gavage étant précoce, à 11 semaines, cela pourrait résulter d'une compétition entre la croissance musculaire et le développement de la stéatose hépatique.

3. Bien-être et comportement

Observés lors de chaque pesée, les critères de bien-être mesurés ne montrent pas de différence entre traitements quel que soit l'âge mais semblent être liés aux conditions d'hébergement, notamment à l'état de la litière.

En élevage tous les animaux ont été très réactifs et se sont entassés, rendant les mesures impossibles. Il n'y a pas eu de différence dans la facilité de gavage.

CONCLUSION

Durant les 20 premiers jours du traitement, la distribution de deux repas par jour **améliore la croissance et la valorisation alimentaire mais ces différences s'estompent puis disparaissent** par la suite. A l'issue du gavage, le **poids du magret est légèrement amélioré** et le **taux de fonte du foie diminué**. La distribution de 2 repas par jours **n'impacte ni l'état corporel des animaux ni leur comportement.**
Dans nos conditions d'élevage, **le fractionnement alimentaire permet d'améliorer temporairement la croissance et la valorisation alimentaire ainsi que les performances technico-économiques**.

REMERCIEMENTS
Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet PROSPeR porté par le GIS Palmipôle grâce au financement du MAA et du CIFOG. Les auteurs remercient les partenaires du projet (ITAVI, INRAE, ASSELDOR, CEPSO, EPLEFPA du Périgord) ainsi que l'ensemble du personnel impliqué.

MISE A MORT EN ELEVAGE : QUELLES BONNES PRATIQUES POUR LE CHOIX DES ANIMAUX CIBLES EN ELEVAGE AVICOLE ?

Dufay-Lefort Anne-Christine[1], Marguerie Jocelyn[2], Collot Frédéric[2], Boucher Samuel[2]

[1]ITAVI 42 rue Georges Morel - CS 60057 49070 BEAUCOUZE,
[2]SNGTV - 5, Rue Moufle, 75011 PARIS
lefort@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

La présence de quelques animaux malades, blessés ou handicapés est inévitable dans tout élevage malgré la qualité des soins prodigués par l'éleveur. Lorsque la guérison ou la gestion de la douleur ne sont pas possibles, leur mise à mort peut s'avérer nécessaire dans le respect du bien-être animal. A défaut de pouvoir solliciter systématiquement le vétérinaire, l'éleveur peut être amené à mettre à mort lui-même certains animaux. La règlementation européenne prévoit des dispositions sur la mise à mort technique en élevage pour les volailles. La règlementation française ne l'autorise - en dehors d'un abattoir - que dans un cadre précis et restrictif, et doit évoluer dans le sens de la règlementation européenne. Un groupe de travail ITAVI / SNGTV a été mis en place pour accompagner les éleveurs et les filières dans l'identification des animaux concernés et dans leur mise à mort sans délai, en utilisant des méthodes adaptées et respectueuses du bien-être animal et de la réglementation.
La présente communication porte-uniquement sur l'identification des situations où la mise à mort est nécessaire. Le groupe de travail a déterminé trois portes d'entrée pouvant donner lieu à une mise à mort d'urgence en élevage en s'appuyant sur la règlementation, la bibliographie et son expérience du terrain : L'animal est –il visiblement malade ? L'animal est-il handicapé ou blessé ? L'animal a-t-il des difficultés d'accès à l'eau et/ou à l'aliment (du fait de son faible développement par exemple ?)
Chaque fois que c'est possible, l'éleveur privilégiera l'isolement de l'animal dans une infirmerie, le temps qu'il puisse récupérer. Mais face à un animal en grande souffrance ou qui ne peut pas guérir rapidement, la mise à mort sera alors décidée au plus vite.
Les différents cas de figure sont résumés dans un arbre décisionnel, qui permet de couvrir l'ensemble des situations rencontrées. Cet arbre sera déployé au sein de chaque filière avicole en prenant en compte les spécificités propres aux différentes espèces et aux systèmes de production, et il sera inclus dans la formation de référent en bien-être animal.

ABSTRACT

What are the best practices for poultry on-farm killing?

The presence of a few sick, injured or disabled animals is inevitable in any farm despite the quality of care provided by the breeder. When healing or pain management is not possible, killing the animal may be necessary while respecting animal welfare. As the veterinarian cannot be called in systematically, the farmer may have to kill certain animals himself. The European regulations provide a frame for technical killing of poultry. French regulation only authorizes it - outside a slaughterhouse - within a precise and restrictive framework, and must evolve in the direction of European regulations. Thus, an ITAVI / SNGTV working group has been set up to assist farmers and the industry in identifying the animals concerned and killing them without delay, using methods that are adapted to and respectful of animal welfare and the regulations.
This communication focuses solely on the identification of situations where killing is necessary. The working group has determined three entry points that may lead to an emergency killing in a farm, based on regulations, bibliography and its field experience: Is the animal visibly ill? Is the animal handicapped or injured? Does the animal have difficulties in accessing water and/or food (due to its weak development for example?)
Whenever possible, the breeder should isolate the animal in an infirmary until it can recover. However, if the animal is in great pain or cannot recover quickly, the decision to kill it should be made as soon as possible.
The different cases are summarized in a decision tree, which covers all situations encountered. This tree will be deployed within each poultry industry, taking into account the specificities of the different species and production systems, and will be included in the training of animal welfare referents.

INTRODUCTION

La présence de quelques animaux malades, blessés ou handicapés est inévitable dans tout élevage malgré la qualité des soins prodigués par l'éleveur. Lorsque la guérison ou la gestion de la douleur ne sont pas possibles, leur mise à mort peut s'avérer nécessaire dans le respect du bien-être animal. A défaut de pouvoir solliciter systématiquement le vétérinaire, l'éleveur peut être amené à mettre à mort lui-même certains animaux. La règlementation européenne prévoit des dispositions sur la mise à mort technique en élevage pour les volailles. La règlementation française ne l'autorise - en dehors d'un abattoir - que dans un cadre précis et restrictif, et doit évoluer dans le sens de la règlementation européenne. C'est ainsi qu'un groupe de travail ITAVI / SNGTV a été mis en place pour accompagner les éleveurs et les filières dans l'identification des animaux concernés et dans leur mise à mort sans délai, en utilisant des méthodes adaptées et respectueuses du bien-être animal et de la réglementation. La présente communication porte uniquement sur l'identification des situations où la mise à mort est nécessaire.

1. CONTEXTE REGLEMENTAIRE

1.1. Règlementation européenne

La mise à mort d'urgence en élevage est encadrée par le règlement européen (CE) No1099/2009, qui en définit les circonstances d'application, les méthodes possibles et leurs modalités d'application, les conditions concernant les opérateurs.

Ce règlement définit la «mise à mort d'urgence» comme la mise à mort d'animaux blessés ou atteints d'une maladie entraînant des douleurs ou souffrances intenses lorsqu'il n'existe pas d'autre possibilité pratique d'atténuer ces douleurs ou souffrances. Le contexte de la mise à mort est plus particulièrement évoqué dans le chapitre I article 2, le chapitre IV article 19 et le chapitre II article 3 : la mise à mort en élevage est le dernier recours pour les animaux blessés ou atteints d'une maladie entraînant des douleurs ou souffrances intenses lorsqu'il n'existe pas d'autre possibilité pratique d'atténuer ces douleurs ou souffrances. L'éleveur des animaux concernés doit prendre toutes les mesures nécessaires pour que les animaux soient mis à mort le plus rapidement possible, et en leur épargnant toute douleur, détresse ou souffrance évitable.

La Commission Européenne a émis en 2017 un rapport « Préparation pour l'établissement d'un guide de bonnes pratiques de protection des animaux au moment de la mise à mort » qui est une synthèse entre le règlement européen, les avis de l'EFSA antérieurs à 2019 pour les différentes espèces, et les résultats de consultations dans différents pays. Il donne des indications sur la contention des animaux et les méthodes utilisables pour l'étourdissement et la mise à mort, mais ne donne pas d'éléments de décision pour la nécessité de la mise à mort.

1.2 Règlementation française

La mise à mort est régie par l'article R.214-78, qui autorise la mise à mort en dehors d'un abattoir dans les trois situations suivantes :

1° En cas de lutte contre les maladies réglementées au sens de l'article D. 221-2;

2° Pour les animaux élevés pour leur fourrure ;

3° Pour les poussins et embryons refusés dans les couvoirs.

La stratégie de la France pour le bien-être des animaux 2016 – 2020 prévoit qu'une réflexion soit conduite pour limiter la souffrance des animaux dépourvus de valeur économique en abordant la question de la mise à mort, en élevage, de certaines catégories d'animaux. L'objectif est d'encadrer les pratiques pour éviter des mauvais traitements, en l'absence de méthode adaptée ou de formation suffisante des éleveurs.

Ainsi, afin de mettre en conformité notre droit national et la réglementation EU, une évolution de l'article R.214-78 est en cours avec un projet de Décret au conseil d'État à l'étude au service des affaires juridiques du ministère de l'agriculture. La règlementation française actuelle concernant la protection en cours d'élevage et l'intervention sur les animaux faibles, malades ou blessés par le vétérinaire est explicitée dans l'arrêté du 28 Juin 2010, annexe, alinea 7-b (poulet de chair), l'arrêté du 01/02/2002, annexe, alinea 10 (poule pondeuse) et l'arrêté modifié du 25/10/1982, article 3.2 (pour les autres espèces avicoles).

Cette règlementation indique que les poulets de chair gravement blessés ou présentant des signes visibles de troubles de la santé, notamment ceux qui se déplacent avec difficulté, qui souffrent d'ascite ou de malformations graves, et ceux qui sont susceptibles de souffrir doivent recevoir un traitement adapté ou sont immédiatement mis à mort. Pour les poules pondeuses qui ne paraissent pas en bonne santé, y compris celles présentant des changements de comportement, il convient d'en établir les causes, et de prendre les mesures nécessaires pour y remédier : isolement, traitement, abattage ou changement de l'environnement. La mise à mort d'urgence est également recommandée pour les autres espèces avicoles lorsque les animaux sont gravement malades,

blessés, accidentés ou en état de misère physiologique.

1.3 Avis de l'EFSA

Le groupe scientifique sur la santé animale et le bien-être des animaux (AHAW) de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA/EFSA) a émis le 26/09/2019 un avis relatif aux aspects concernant le bien-être des volailles soumises à l'étourdissement et à la mise à mort dans le cadre des pratiques d'abattage autres que pour la consommation humaine.

Cet avis a pour objet de fournir à la Commission européenne une base scientifique solide avec une revue des publications scientifiques les plus récentes, pouvant amener à modifier certaines recommandations sur les méthodes de mise à mort.

2. SITUATIONS EXIGEANT UNE MISE A MORT TECHNIQUE – ARBRE DE DECISION

Pour produire ses recommandations, le groupe de travail ITAVI/SNGTV s'est appuyé d'une part sur l'expérience terrain d'accompagnement par les vétérinaires des éleveurs, organisations de production et filières, et d'autre part sur le cadre règlementaire et les recommandations de l'EFSA.

L'objectif étant de minimiser le nombre d'animaux concernés par la mise à mort en élevage, il est important de privilégier les mesures préventives, décrites dans le guide des bonnes pratiques d'hygiène sanitaire des élevages de volailles de chair, et établies individuellement par élevage dans le cadre du suivi sanitaire permanent et du bilan sanitaire d'élevage annuel.

Le groupe de travail ITAVI/SNGTV a ainsi déterminé trois portes d'entrée pouvant donner lieu à une mise à mort technique en élevage :

- L'animal est –il malade ?
- L'animal est-il handicapé ou blessé
- L'animal ne peut-il plus avoir accès à l'eau et/ou à l'aliment pour d'autres raisons que les deux motifs précédents ?

Exemple de cas : un animal malade avec grosse tête et yeux collés ou un torticolis, animal présentant une fracture, une rupture tendineuse, des malformations ou des déformations empêchant l'animal d'accéder à la nourriture et/ou à l'eau.

Lorsque la réponse à l'une des questions précédentes est positive, l'éleveur privilégiera les soins à l'animal à chaque fois que cela sera possible, en ayant recours à l'isolement dans une infirmerie ou un parc, le temps que l'animal puisse récupérer et retrouver ses congénères. Ce temps a été défini par le groupe de travail à 24-48h pour les animaux malades, et une semaine pour les animaux blessés, sur la base de l'expérience des vétérinaires praticiens du groupe de travail. Il reste indicatif et à la libre appréciation de l'éleveur.

Pour les animaux en impasse thérapeutique (guérison impossible avec incapacité pour l'animal de réintégrer sainement le troupeau dans des délais compatibles avec la durée d'élevage), si la souffrance n'est pas gérable, ou l'accès à l'eau ou l'alimentation est physiologiquement impossible, la mise à mort en élevage sera décidée au plus vite.

Les différents cas de figure ont donné lieu à l'établissement d'un arbre de décision **(voir figure 1).** Cet arbre de décision se veut très général pour pouvoir couvrir l'ensemble des situations qui pourront être rencontrées. Il sera déployé au sein de chaque filière en prenant en compte les spécificités propres aux différentes espèces et systèmes de production.

CONCLUSION

Dans un environnement de prise en considération croissante de la protection et du bien-être animal, étayée par des retours terrains et de nombreuses références scientifiques, avec un cadre règlementaire en évolution, il est important que les éleveurs puissent être accompagnés pour mettre à mort, efficacement et dignement, leurs animaux incurables ou en état de souffrance, même si cela représente la dernière solution d'urgence, et que ce geste est souvent psychologiquement difficile à réaliser pour l'éleveur. C'est dans ce contexte que cet arbre décisionnel a été établi : il donne des directions claires et déclinables dans les différents types de productions.

Les travaux se poursuivent sur le choix des méthodes à retenir pour la mise en œuvre sur le terrain, l'élaboration d'une formation (qui sera incluse dans la formation de référent en bien-être animal) et la définition de l'encadrement sanitaire.

REMERCIEMENTS

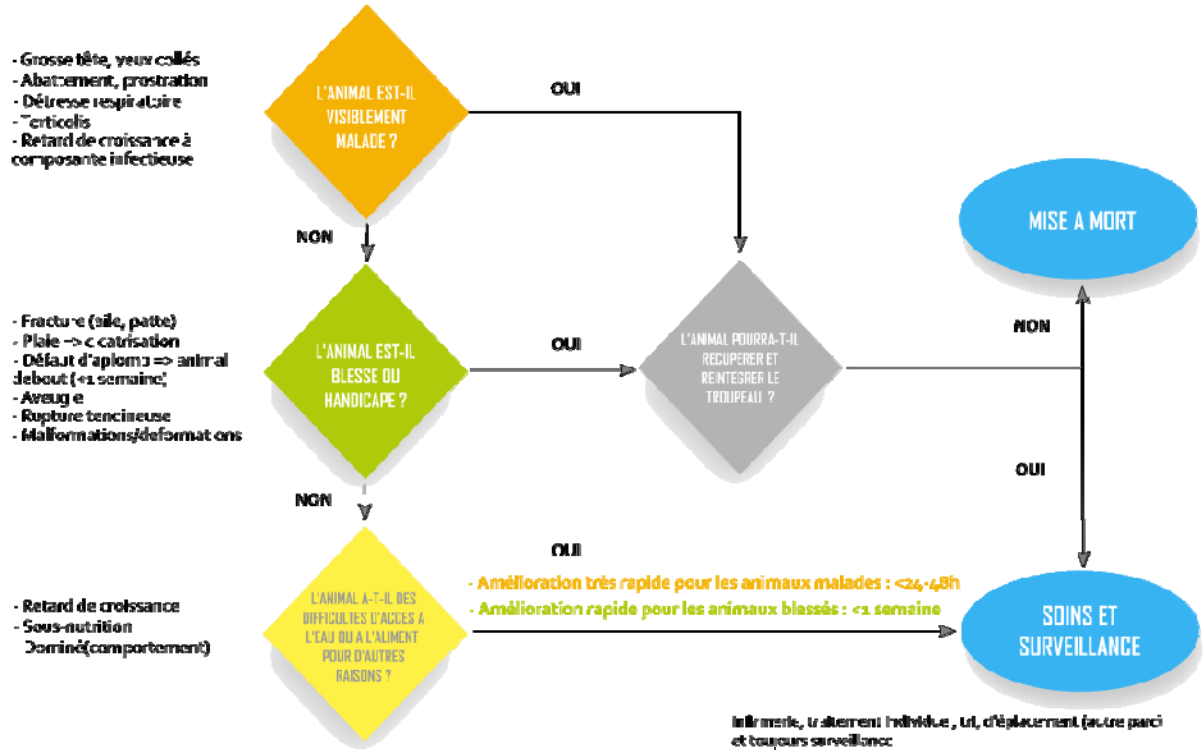
Cette étude a été co-financée par les interprofessions de la volaille (Anvol, CNPO, CIFOG, SNA).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- Guide des bonnes pratiques d'hygiène sanitaire des élevages de volailles de chair, CIPC, 2017, V 4.1,1-55.
2- Règlement européen (CE) No 1099/2009 du 24 septembre 2009 sur la protection des animaux au moment de leur mise à mort – Journal officiel de l'Union européenne du 18 novembre 2019, 1-30.
3- Preparation of best practices on the protection of animals at the time of killing - Final Report- Commission Européenne – DG Santé et de la sécurité alimentaire, 2017, 1-392.
4- Nielsen SS, Alvarez J, Bicout DJ, Calistri P, Depner KR, Drewe JA, et al. Killing for purposes other than slaughter: poultry. EFSA Journal. 2019;17 https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2019.5850
5- Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, Code rural et de la pêche maritime, 2012, article R.214-78.
6- Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2010, Arrêté du 28 Juin 2010, annexe, alinea 7-b.
7- Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2002, Arrêté du 1er février 2002, annexe, alinea 10.
8- Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 1982, Arrêté modifié du 25 octobre 1982, article 3.2.

,

Figure 1 : Arbre décisionnel pour la mise à mort technique des volailles



SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

SESSION

PATHOLOGIE - PREVENTION

Posters

Les facteurs déclenchants de la colibacillose du poulet de chair : étude épidémiologique dans 80 élevages en France

Julie Puterflam[1], Pascal Galliot[1], Loïc Balaine[2], Isabelle Kempf[3], Laetitia Le Devendec[3], Camille Lucas[2], Stéphanie Bougeard[2], Sabine Delannoy[4], Catherine Schouler[5], Sophie Le Bouquin[2], Rozenn Souillard[2]

[1] ITAVI, Ploufragan, France
[2] ANSES, Unité Epidémiologie Santé et Bien être, laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, France
[3] ANSES, Unité Mycoplasmologie Bactériologie Antibiorésistance, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, France
[4] Université Paris-Est, ANSES, Plateforme IdentyPath, Laboratoire de Sécurité des Aliments, Maisons-Alfort, France
[5] ISP, INRAE, Université de Tours, UMR 1282, Nouzilly, France

RÉSUMÉ

La colibacillose aviaire est une maladie multifactorielle provoquée par la bactérie *Escherichia coli,* un hôte commun du tube digestif des volailles. *E. coli* a la particularité de présenter une grande diversité de souches : si la plupart sont non pathogènes, certaines possèdent des facteurs de virulence susceptibles de déclencher une colibacillose. L'étude Colisée avait pour objectif de mettre en évidence des pistes de prévention de cette maladie par la caractérisation de marqueurs de virulence des souches d'*E.coli* et l'identification de pratiques d'élevage particulièrement à risque. Cette étude a été conduite dans 80 élevages de poulets de chair entre 2017 et 2019, avec deux visites : l'une à la mise en place (chiffonnettes dans le bâtiment avant l'arrivée des poussins, prélèvement de poussins et chiffonnette de fond de boite à l'arrivée des poussins, notation de leur qualité, de leur comportement, mesures d'ambiance), et l'autre à trois semaines d'âge (mesures d'ambiance, notation du comportement des poulets). En cas de suspicion d'une colibacillose par l'éleveur, des poulets ont été envoyés au laboratoire pour diagnostic bactériologique. Près d'une centaine de marqueurs de virulence ont été recherchés sur les souches isolées d'environnement d'élevage ou de cas cliniques de colibacillose. Les résultats indiquent qu' *E. coli* a été identifié dans 47% des bâtiments avant l'arrivée des poussins, sur fonds de boîte à la livraison des animaux dans 95% des lots et sur poussin dans 79% des lots. Des colibacilloses ont été signalées dans 39% des élevages. L'étude des facteurs de risque a permis d'identifier des facteurs d'élevages liés à la biosécurité (passage du camion d'équarrissage, lutte contre les rongeurs, pratique de désinfection du bâtiment et traitement de l'eau) et à l'accueil des poussins (hygrométrie, homogénéité des poussins et méthode de déchargement). Un modèle prédictif a également mis en évidence une influence plus importante des pratiques d'élevage par rapport à celle de la virulence des souches d'*E. coli* présentes au démarrage sur le déclenchement de la colibacillose.

ABSTRACT

Risks factors of colibacillosis in broilers: epidemiological study in 80 farms in France

Avian colibacillosis is a multifactorial disease caused by the bacterium *Escherichia coli*, a common host in the digestive tract of poultry. *E. coli* has the particularity of having a great diversity of strains: while most are non-pathogenic, some have virulence factors capable of triggering colibacillosis. The objective of the Colisée study was to highlight avenues for the prevention of this disease by characterizing virulence markers of *E. coli* strains and identifying particularly risky breeding practices. This study was carried out in 80 broiler farms between 2017 and 2019, with two visits: one during installation (cloths in the building before the arrival of the chicks, sampling of chicks and bottom of the box cloth. at the arrival of the chicks, rating of their quality, their behavior, environmental measurements), and the other at three weeks of age (ambient measurements, rating of the behavior of the chickens). If the breeder suspected colibacillosis, chickens were sent to the laboratory for bacteriological diagnosis. Almost a hundred virulence markers have been searched for on strains isolated from the farming environment or from clinical cases of colibacillosis. The results indicate that *E. coli* was identified in 47% of the buildings before the arrival of the chicks, on the bottom of the box upon delivery of the animals in 95% of the lots and on the chick in 79% of the lots. Colibacillosis was reported in 39% of herds. The study of risk factors made it possible to identify breeding factors linked to biosecurity (passage of the rendering truck, rodent control, practice of disinfection of the building and water treatment) and reception of chicks (hygrometry, homogeneity of chicks and unloading method). A predictive model also demonstrated a greater influence of husbandry practices compared to that of the virulence of *E. coli* strains present at start-up on the onset of colibacillosis.

INTRODUCTION

La colibacillose aviaire est l'infection bactérienne la plus fréquente en production avicole. Elle se caractérise par de la morbidité et de la mortalité en élevage entrainant une utilisation d'antibiotiques et des saisies à l'abattoir ayant pour conséquence des pertes économiques conséquentes pour les élevages.
La maladie est provoquée par la bactérie *Escherichia coli,* un hôte commun du tube digestif des volailles (Barnes et al, 2008) présentant une grande diversité des souches dont la plupart ne sont pas pathogènes. Cependant, des souches dites APEC (Avian Pathogenic *E. coli*) possédant des marqueurs génétiques de virulence peuvent être responsables de manifestations cliniques dans les élevages, entrainant de la mortalité associée à des omphalites, des infections respiratoires ou des boiteries (Dobrindt, 2005; Rodriguez-Siek et al., 2005). La colibacillose est une maladie multifactorielle. Outre les marqueurs de virulence des souches bactériennes, l'environnement de vie des animaux, les pratiques d'élevage et l'état d'immunodépression des volailles jouent également un rôle majeur dans le déclenchement de la maladie (Guabiraba and Schouler, 2015).

Etant données les difficultés de maîtrise de la maladie dans les élevages, le projet COLISEE « Maîtrise de la colibacillose du poulet : quelles pistes d'action? » est conduit par l'UMT Sanivol (ITAVI/ANSES), l'unité Mycoplasmologie Bactériologie et Antibiorésistance et la plateforme Identypath de l'ANSES en partenariat avec les laboratoires RESALAB, FINALAB et LABOCEA et avec le concours de l'UMR1282 de INRAE. L'étude épidémiologique menée dans 80 lots de poulets de chair a pour objectif de mettre en évidence des moyens de prévention de la colibacillose aviaire par l'identification des marqueurs de virulence issus de souches cliniques d'*E. coli* ainsi que les pratiques d'élevage à risque.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. L'enquête réalisée dans 80 lots de poulets de chair

80 lots de poulets standard (souches Ross 308, Ross RJE et Cobb) de 4 organisations de production localisés en Bretagne, Pays de Loire et Normandie, mis en place entre mai 2017 et février 2019, ont été inclus dans l'étude (recrutement des lots aléatoire et basé sur le volontariat des éleveurs). Pour chaque lot de poulets, 2 visites sont réalisées.
Lors de la première visite, environ une heure avant l'arrivée des poussins, 5 chiffonnettes sont réalisées dans le bâtiment : sur les parois, sur le matériel (mangeoires et abreuvoirs), sur les soubassements, sur les entrées d'air et sur la litière, ainsi qu'un prélèvement d'eau en bout de ligne. A l'arrivée du camion de livraison des poussins, 10 poussins et une chiffonnette sur 20 fonds de boites sont prélevés. Au déchargement des poussins, une notation et une pesée individuelle de 100 poussins est réalisée. Enfin, des mesures d'ambiance (dioxyde de carbone, température et hygrométrie) sont réalisées dans chaque quart du bâtiment (sonde KIMO®).
Lors de la seconde visite à 3 semaines d'âge, des mesures d'ambiance sont relevées (dioxyde de carbone, la température et l'hygrométrie, ainsi qu'une mesure de NH_3 et 2 mesures de poussières totales). Un questionnaire épidémiologique est également rempli avec l'éleveur (descriptif de l'exploitation, du bâtiment et des conditions de démarrage du lot, état sanitaire …).
Par ailleurs, en cours d'élevage, en cas de suspicion d'une colibacillose par l'éleveur et/ou le technicien, des poulets sont déposés dans un laboratoire d'analyse partenaire de l'étude, selon des critères de mortalité et de signes cliniques définis. Pour les animaux âgés de moins de 10 jours (suspicion d'une colibacillose précoce), l'éleveur dépose 10 poussins au laboratoire en cas de mortalité >0,3% sur une journée (avec signes lésionnels ou cliniques suspects). Pour les animaux âgés de plus de 10 jours (suspicion de colibacillose tardive), l'éleveur dépose 6 poulets au laboratoire en cas de mortalité > 0,1% par jour sur 2 jours consécutifs (avec signes lésionnels ou cliniques suspects).

L'ensemble des échantillons (réalisés à partir des chiffonnettes batiments, des poussins, des chiffonnettes de fonds de boite et des lésions colibacillaires) est analysé par les laboratoires partenaires de l'étude pour recherche d'*E. coli* par isolement sur gélose lactosée, identification et sérotypage des souches O1, O2 et O78.

1.2. Identification des marqueurs de virulence des souches d'*E. coli* isolées dans les 80 élevages par PCR haut débit

Le ADN des souches d'*E. coli* provenant des prélèvements d'élevage (environnement, poussins d'un jour et cas de colibacillose) sont transmis par les laboratoires partenaires à la plateforme IdentyPath de l'Anses afin d'étudier leur profil génétique et d'identifier les marqueurs de virulence par la méthode de PCR temps réel à très haut-débit, le BioMark™ (Fluidigm). Les **marqueurs génétiques associés à la virulence des souches d'*E. coli*** sont identifiés grâce au croisement des 170 souches issues des bâtiments et fonds de boite des lots Témoins (sans colibacillose) *vs* 203 souches issues des épisodes de colibacilloses des élevages Cas.

1.3. Analyse statique de l'ensemble des données

Dans un premier temps, les **118 variables explicatives du terrain**, issues des données collectées dans les élevages sont croisées par un procédé de Machine learning avec la **variable à expliquer** qui

correspond aux élevages présentant une colibacillose. Cette analyse permet d'identifier les pratiques d'élevages à risque associés à la colibacillose.
Dans un second temps, l'influence de **la présence de souches virulentes d'*E. coli*** dans les élevages (bâtiment, poussins à l'arrivée, ou fond de boites) sur le déclenchement de la colibacillose est testée en intégrant cette donnée au Machine learning. Pour cela, la virulence prédite des souches est déterminée grâce aux marqueurs de virulence identifiés par PCR haut débit (avec la moyenne de virulence et le maximum de virulence des souches**)**.
Au final, le modèle obtenu nous a permis de prendre en compte à la fois l'impact de la virulence des souches et des pratiques d'élevages Sur le déclenchement des cas de colibacillose.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Détection d'*E. coli* à l'arrivée des poussins et prévalence des épisodes de colibacilloses

La bactérie *E. coli* a été identifiée dans 47% des bâtiments avant l'arrivée des poussins, sur fonds de boîte à la livraison des animaux dans 95% des lots et sur les foies ou et/ou vitellus de poussin dans 79% des lots avec au moins un poussin positif.
36 épisodes de colibacillose ont été signalés dans 38,7% des lots (**31 lots/80)** avec 2 épisodes de colibacillose (un précoce et un tardif) dans 5 de ces lots : 5 élevages avec 1 colibacillose précoce et 1 colibacillose tardive, 20 élevages avec 1 colibacillose précoce, 6 élevages avec 1 colibacillose tardive.
Par conséquent, **25 colibacilloses précoces** et **11 colibacilloses tardives** ont été observées. L'apparition de la maladie a eu lieu en moyenne à 2 jours d'âge pour les épisodes précoces (avec de la mortalité) et à 20 jours pour les tardifs.

2.2. Marqueurs génétiques de virulence des souches d'*E. coli* isolées dans les 80 élevages

Les analyses PCR haut débit ont permis d'identifier **13 marqueurs génétiques associés à la virulence des souches d'*E. coli*** grâce au croisement de 170 souches issues des bâtiments et fonds de boite des lots Témoins (sans colibacillose) *vs* 203 souches issues des épisodes de colibacilloses des élevages Cas. Parmi ces 13 marqueurs, 11 sont plutôt associés aux cas (i.e., *fli*CH4, a*ec4, ETT22, fyuA, iha, ireA, iroN, iutA1, papA, tsh* et *vat*), les deux autres sont plutôt associés aux témoins (i.e., *arpA* et frz_{orf4}). Ils permettent de prédire en moyenne 85 % des cas et 80 % des témoins.

2.3. Les facteurs d'élevage à risque associés à la colibacillose

Dans un premier temps, le croisement des **118 variables explicatives** du terrain avec la variable à **« cas de colibacillose »** a permis d'identifier des facteurs d'élevage à risque de la colibacillose **(Tableau 1).**

Ainsi les conditions d'accueil des poussins peuvent influencer le déclenchement des colibacilloses en élevage. En effet, il a été montré qu'une situation de stress anormal peut prédisposer les volailles à la colibacillose (Matsumoto and Huang, 2000), ce qui pourrait être le cas lors d'un **déchargement des poussins** avec des containers à tiroirs. Le délai d'accès à l'eau et à l'aliment a également un impact sur la qualité du démarrage et les performances des animaux (Bergoug et al., 2013). Il a en effet été montré dans notre étude que **l'observation de poussins assoiffés** au moment de la mise en place était un facteur de risque. Le poussin est également incapable de réguler sa température qui varie fortement selon son environnement, il faut s'assurer que les animaux arrivent dans une ambiance favorable. L'hygrométrie et la température sont à surveiller de manière très précise en utilisant des sondes adéquates et étalonnées, car elles peuvent être révélatrices d'une ventilation inadéquate. **Une hygrométrie trop forte** (>50%) à la mise en place est un bon indicateur du risque de déclencher une colibacillose (deux fois plus de risque selon les résultats) révélant potentiellement une température trop faible avec une litière froide, qui va pousser les poussins à utiliser l'énergie du sac vitellin pour produire de la chaleur au détriment du développement du système immunitaire. Enfin la qualité des poussins à l'arrivée à l'élevage peut influencer l'expression de la maladie (Maatjens et al., 2016), ce que confirme notre étude avec **un % d'homogénéité** des poussins plus élevé identifié comme un facteur préventif de la colibacillose.

Les mesures de biosécurité peuvent également influencer le déclenchement des colibacilloses en élevage. Différentes sources d'introduction dans les élevages ont été identifiées, comme les rongeurs qui peuvent être des réservoirs potentiels de *E. coli* au niveau intestinal et dans les matières fécales (Barnes et al, 2008). Les ténébrions peuvent également être porteurs (Goodwin and Douglas, 1996) ainsi que les oiseaux sauvages (Barnes et al, 2008). Comme montré par notre étude, des abords potentiellement contaminés par le germe peuvent devenir une source d'introduction de la bactérie dans les bâtiments : **passage du camion d'équarrissage**, **présence de rongeurs**, **allers retours avec l'extérieur lors du déchargement des poussins** dans le bâtiment…Par ailleurs, étant donnée la persistance du germe dans les poussières, les mesures d'hygiène et de désinfection peuvent limiter la pression colibacillaire. Les résultats indiquent qu'une première **désinfection par thermo** nébulisation bien maîtrisée est préférable à une pulvérisation mal maîtrisée, permettant de réduire d'un facteur 7 le risque de maladie. On peut rappeler l'importance du temps de contact, du volume d'eau, du mouillage de la surface, des doses, des concentrations, de la température et du rinçage. Les résultats sur les pratiques indiquent par ailleurs qu'il

est fondamental d'assurer la qualité sanitaire de **l'eau de boisson,** en appliquant si nécessaire un traitement efficace. En cas de traitement au chlore, il faut s'assurer de la qualité physico-chimique de l'eau (vérifier le pH, les teneurs en manganèse et fer) afin de maîtriser le taux de chlore actif en bout de ligne et sa stabilité. Le cas échéant un traitement au peroxyde d'hydrogène sera moins exigeant et donc plus sécurisant et permet ici de réduire de 50% le risque de colibacillose.

2.4. Modèle prédictif : une influence plus importante des pratiques d'élevage que de la virulence des souches d'*E. coli*

Parmi les variables de virulence des souches (moyenne et maximum de virulence pour les trois types de données : bâtiment, poussin et fond de boîte), seule celle du maximum de virulence pour **les souches de fond de boîte est significative** (probablement en raison d'un nombre insuffisant de lots avec *E. coli* dans les bâtiments et poussins). L'étude a ainsi permis de mettre en évidence **l'influence de la virulence des souches d'*E. coli* retrouvées à partir des chiffonnettes de fonds de boites** lors de la livraison des poussins. Cependant, le modèle prédictif décrit dans notre étude, montre un effet plus important des pratiques d'élevages **(Figure 1).** Les résultats indiquent que si les pratiques à risques sont suffisantes pour favoriser la maladie (95% de risque), la présence des facteurs de virulence ne l'est pas en cas de pratiques d'élevage bien maitrisées. Le modèle utilisé pour ces prédictions permet de prédire les cas à 58% et les témoins à 73%, il s'agit donc d'un modèle correct. Ainsi même s'il y a présence d'une souche virulente d'*E. coli*, des pratiques d'élevages protectrices pourraient permettre d'éviter le déclenchement d'une colibacillose. Il ne faut cependant pas oublier que les performances du modèle ne sont pas parfaites et qu'il s'agit ici de probabilités.

CONCLUSION

Les cas cliniques de colibacillose sont déclenchés par la présence simultanée de souches d'*E. coli* présentant des facteurs de virulence et par certaines conduites d'élevages considérées « à risque ». Les résultats de cette étude ont mis en évidence le fait que la maladie est susceptible d'être maîtrisée par la mise en œuvre de pratiques d'élevage respectueuses des besoins du poussin lors de son arrivée ainsi que par des mesures de biosécurité tout au long du lot, permettant d'éviter le risque d'introduction d'agents pathogène dans le bâtiment.

REMERCIEMENTS

Ce projet s'inscrit dans le projet CAS DAR N° 1608, et a été menée dans le cadre collaboratif de l'UMT SANIVOL impliquant l'ANSES et l'ITAVI grâce au soutien financier de la DGER et du CIPC.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Barnes H.J. et al., Diseases of poultry. 12 th edition. 2008 Editor Y.M. Saif.

Bergoug, H., Burel, C., Guinebretière, M., Tong, Q., Roulston, N., Romanini, C.E.B., Exadaktylos, V., McGonnell, I.M., Demmers, T.G.M., Verhelst, R., Bahr, C., Berckmans, D., Eterradossi, N., 2013. Effect of pre-incubation and incubation conditions on hatchability, hatch time and hatch window, and effect of post-hatch handling on chick quality at placement. World's Poultry Science Journal 69, 313-334.

Dobrindt, U., 2005. (Patho-)Genomics of *Escherichia coli*. Int J Med Microbiol 295, 357-371.

Goodwin, M.A., Douglas, W., 1996. Transmission of Eimeria, Viruses, and Bacteria to Chicks: Darkling Beetles (Alphitobius diaperinus) as Vectors of Pathogens

Guabiraba, R., Schouler, C., 2015. Avian colibacillosis: Still many black holes. FEMS Microbiology Letters 362.

Maatjens, C.M., Van Roovert-Reijrink, I.A.M., Van Den Anker, I., Engel, B., Van Der Pol, C.W., Kemp, B., Van Den Brand, H., 2016. Temperature during the last week of incubation. II. Effects on first week broiler development and performance. Poultry Science 95, 2136-2144.

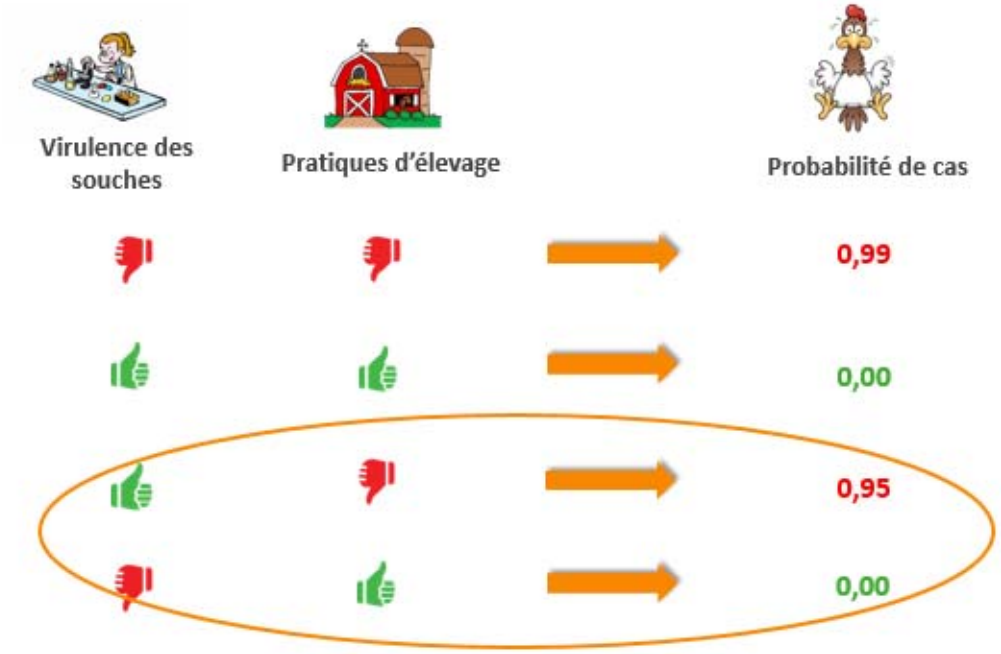
Matsumoto, M., Huang, H.J., 2000. Induction of short-term, nonspecific immunity against Escherichia coli infection in chickens is suppressed by cold stress or corticosterone treatment. Avian Pathol 29, 227-232.

Rodriguez-Siek, K.E., Giddings, C.W., Doetkott, C., Johnson, T.J., Nolan, L.K., 2005. Characterizing the APEC pathotype. Vet Res 36, 241-256.

Tableau 1 : Les pratiques d'élevage permettant de réduire les cas de colibacillose aviaire

	Pratiques d'élevage
Accueil des poussins	Homogénéité des poussins à la mise en place > 85%
	Poussins non assoiffés à la mise en place
	Méthode de déchargement des poussins : dans les caisses d'origine (VS par containers)
	Hygrométrie moyenne à la mise en place <53% HR
Mesures de biosécurité	Distance de passage du camion d'équarrissage > 50 mètres du bâtiment
	Nature de la première désinfection : thermonébulisation
	Nature du traitement de l'eau : au peroxyde d'hydrogène
	Lutte contre les rongeurs réalisée par une entreprise spécialisée
	Pas d'allers-retours entre l'intérieur et l'extérieur du bâtiment de personnes ou de matériel roulant

Figure 1 : Modèle de prédiction des cas de colibacillose selon la virulence des souches et la maîtrise des pratiques d'élevage



ETUDE DE LA CAPACITE DES DETERGENTS ENZYMATIQUES A LUTTER CONTRE LES BIOFILMS D'*ESCHERICHIA COLI*

Hanin Aurélie[1], Levert Delphine[1], Soumet Christophe[2], Bridier Arnaud[2], Rousset Nathalie[3], Travel Angélique[3]

[1]ACTALIA, Sécurité des Aliments, 310 rue Popielujko, 50 000 SAINT-LO
[2]ANSES, Laboratoire de Fougères, Bâtiment Bioagropolis, 10B Rue Claude Bourgelat, 35133 JAVENE
[3]ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonnière, 75009 PARIS
a.hanin@actalia.eu

RÉSUMÉ
La décontamination est une étape primordiale pour la sécurité sanitaire des produits alimentaires avicoles et le maintien de la biosécurité au sein des couvoirs et des élevages. Elle s'appuie sur l'utilisation de produits biocides désinfectants qui peuvent, pour la plupart, présenter des risques pour la santé des utilisateurs, l'environnement et/ou le matériel. Pour limiter leur usage, et donc l'exposition des travailleurs, des méthodes complémentaires peuvent être envisagées pour utiliser mieux et moins ces intrants chimiques. Le projet aDAPt comprend une étape dédiée à l'évaluation de procédés alternatifs ou complémentaires à l'utilisation de désinfectants, parmi lesquels les détergents enzymatiques qui ont fait l'objet des travaux décrits ici. Le rôle des enzymes est de dégrader les souillures organiques pour faciliter l'action du détergent, déstructurer les biofilms bactériens et ainsi améliorer l'efficacité de la désinfection. La capacité de 4 détergents enzymatiques commerciaux à déstabiliser des biofilms d'*Escherichia coli* a été évaluée en présence d'une souillure organique représentative des élevages de poulet de chair. L'efficacité de ces produits a été mesurée en laboratoire en fonction de l'action mécanique appliquée (avec ou sans agitation), du matériau à nettoyer (coupons en polyéthylène ou acier inoxydable) et de la température d'application (10, 20 et 30°C). Les résultats obtenus montrent que les détergents enzymatiques peuvent, dans les conditions les plus favorables (20°C, sur acier inoxydable et avec agitation) réduire de 2,6 log la concentration en *E. coli* à la surface des coupons par rapport à une simple détergence à l'eau et améliore l'efficacité du procédé de nettoyage et désinfection dans son ensemble. Ces résultats apportent aux acteurs des filières accouvage, élevage et abattoirs, un éclairage objectif sur l'intérêt des détergents enzymatiques pour dégrader les biofilms et permettent d'optimiser leurs conditions d'utilisation.

ABSTRACT
Ability of enzymatic detergents to help controlling *Escherichia coli* biofilms
Disinfection is a key component to ensure safety of avian food products and maintain biosecurity in hatcheries and poultry farming. It relies on the use of disinfecting biocide products, most of them with harmful consequences on the health of users, on the environment and/or on equipment. To reduce their use and consequently their impact on users' health, complementary approaches can be explored for a better and reduced use of these chemical inputs. One of the project aDAPt's goals is to assess some relevant substitutes or add-ons to conventional cleaning & disinfection protocols. The efficacy of the use of an enzymatic cleaning was then investigated. The ability of 4 commercially available formulations to alter *Escherichia coli* biofilms was tested in presence of reconstituted chicken droppings. Susceptibility of biofilms to the enzyme-based detergents was measured in laboratory conditions, varying the following parameters: application of a moderate mechanical force, material to be cleaned (stainless steel or polyethylene coupons) and temperature (10, 20 and 30°C). In favorable conditions (on stainless steel, at 20°C with a mechanical action), the enzymatic cleaning achieved a 2.6 log reduction in the *E. coli* concentration on the coupons' surface compared to a cleaning with water and significantly improved the overall efficacy of the cleaning and disinfection process. These results demonstrate to the avian sector stakeholders that enzyme-based detergents can be a good option to increase the efficacy and optimize their cleaning and disinfection protocols.

INTRODUCTION

L'efficacité des opérations de nettoyage et désinfection est essentielle pour garantir et renforcer la maîtrise sanitaire et contrôler la circulation des agents pathogènes dans la filière avicole. Or, l'utilisation en grande quantité de biocides de type désinfectant pour la décontamination des infrastructures et du matériel peut présenter des risques pour la santé humaine, la santé animale et pour l'environnement. L'optimisation des protocoles de nettoyage et désinfection constitue donc un enjeu majeur pour la filière. La présence de souillure organique et l'organisation des microorganismes en biofilms nécessitent l'application régulière des biocides à des concentrations importantes.

Les biofilms sont des communautés de microorganismes adhérant sur des surfaces et produisant une matrice extracellulaire qui joue un rôle protecteur vis-à-vis des agressions physico-chimiques (Bridier *et al.*, 2011). Les bactéries organisées en biofilm sont 100 à 1000 fois plus résistantes aux désinfectants qu'une cellule planctonique ou simplement adhérée sur une surface (Otter *et al.*, 2015). Différents travaux à visée médicale ou agroalimentaire ont montré que l'utilisation de détergents enzymatiques permettait d'éliminer en partie les biofilms lors de la phase de nettoyage et de les fragiliser pour l'étape de désinfection subséquente (Delhalle *et al.*, 2020 ; Fagerlund *et al.*, 2020 ; Ren *et al.*, 2013 ; Ripolles-Avila *et al.*, 2020 ; Tsiaprazi-Stamou *et al.*, 2019).

Les détergents enzymatiques sont associés à la chimie verte car leur pH est neutre et ils sont constitués de composés naturels, biodégradables et de faible toxicité (Tsiaprazi-Stamou *et al.*, 2019). Ils contiennent généralement des tensioactifs et un mélange d'enzymes dont l'activité cible la matrice extracellulaire des biofilms : protéases, lipases, amylases mais aussi cellulases, polysaccharides dépolymérases, alginate lyases, dispersines et DNAses (Bridier *et al.,* 2015). Même si ces nouvelles formulations détergentes sont de plus en plus utilisées, avec succès, en industrie agroalimentaire (surfaces ouvertes ou fermées), leur efficacité dans un contexte d'élevage avicole restait à démontrer.

Dans le cadre du projet aDAPt, les acteurs de la filière ont donc souhaité évaluer l'impact positif que pourrait avoir l'utilisation des détergents enzymatiques sur l'efficacité globale des protocoles de nettoyage et désinfection appliqués en aviculture. Le modèle bactérien choisi pour cette étude est *Escherichia coli.* Cette bactérie est responsable de colibacilloses provoquant la mort prématurée des poulets de chair et de lourdes pertes économiques pour la filière (Apostolakos *et al.*, 2021 ; Kemmett *et al.*, 2014).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Souche bactérienne

La souche *E. coli* DSM682, largement utilisée pour valider l'efficacité des désinfectants, a été sélectionnée afin d'établir des biofilms et évaluer l'impact des détergents enzymatiques. Cette souche est cultivée en bouillon TSBYE (Bouillon trypticase – soja supplémenté en extrait de levure) et dénombrée sur milieu gélosé TSAYE (TSBYE supplémenté en agar).

1.2. Désinfection des coupons

Les coupons (20 x 10 x 1 mm) en acier inoxydable 304L (EML, La Hague) et en polyéthylène (GoodFellow, Lille), matériaux présents dans les différents maillons de la filière avicole, sont dégraissés dans de l'éthanol absolu pur pendant 30 min puis rincés 5 fois dans 50 ml d'eau osmosée stérile. Ils sont ensuite désinfectés dans de l'éthanol à 70% pendant 5 min et rincés dans l'eau osmosée stérile pendant 10 min. Toutes ces étapes sont réalisées sous agitation. Les coupons sont ensuite séchés et conservés stérilement jusqu'à utilisation.

1.3. Préparation des biofilms

Des fientes de poulet sont reconstituées en hydratant 20 g de lyophilisat avec 100 g d'eau distillée stérile [pH = 5,96] puis stérilisées à 121°C pendant 15 minutes. Quarante microlitres de fientes réhydratées sont déposés sur les coupons. Après une heure d'incubation à 25°C, 40 µl d'une solution d'*E. coli* calibrée à $1x10^8$ UFC/ml est ajoutée sur le coupon (des essais préliminaires ont permis de définir le niveau de dilution nécessaire pour obtenir une concentration de $1x10^8$ UFC/ml environ à partir d'une préculture de 16 heures en TSBYE). Les coupons sont ensuite placés dans des boîtes de Petri stériles dans une étuve à 25°C pendant 5 jours en condition humide. Avant analyse ou traitement, les biofilms sont rincés à deux reprises avec de l'eau physiologique puis placés dans des tubes en verre contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. Les cellules bactériennes adhérentes sont décrochées des supports à l'aide d'ultrasons à 35 kHz pendant 2 min (Sonicateur Elma S120H Elmasonic) avant d'être dénombrées par ensemencement d'une série de dilutions décimales en surface de géloses TSAYE.

1.4. Détergents enzymatiques

Sur la base d'une enquête menée auprès des professionnels de la filière avicole, de fournisseurs et de vétérinaires, 4 produits commerciaux qualifiés de détergents enzymatiques ont été sélectionnés. D'après leurs fiches techniques, tous ces détergents contiennent des tensio-actifs additionnés de 2 ou 3

types d'enzymes (amylases et protéases pour le produit D ; amylases, protéases et lipases pour les produits A, B et C). En guise de contrôle, de l'eau du réseau a été utilisée comme détergent témoin.

Les détergents ont été appliqués sur les biofilms préalablement séchés à 37°C pendant 1 heure. Cette étape de séchage entraîne une réduction logarithmique de l'ordre de 0,5 log de la population de *E. coli* sur le support (données non montrées). Les coupons sont recouverts de détergent à la concentration d'emploi. Les coupons sont ensuite prélevés et rincés 2 fois dans de l'eau du réseau urbain stérile.

Les produits ont été utilisés avec les concentrations et temps de contact indiqués dans la fiche technique du fournisseur. Tous les détergents enzymatiques ont ainsi été utilisés à 2% après dilution dans de l'eau du réseau stérile. Le temps de contact est de 20 minutes pour le détergent B contre 30 minutes pour les produits A, C et D.

Pour évaluer l'impact de la température d'application, l'eau du réseau stérile utilisée pour la dilution des produits a été préalablement chauffée ou refroidie à 10, 20 ou 30°C avant dilution et application sur les biofilms. Le traitement a ensuite été réalisé dans une enceinte à la température souhaitée.

Quand une action mécanique a été appliquée, les coupons ont été placés sur un agitateur orbital à 165 rpm pendant le traitement.

1.5. Application du désinfectant

Un désinfectant à base d'ammonium quaternaire et de glutaraldéhyde largement utilisé dans la filière avicole a été appliqué sur les biofilms résiduels en aval du traitement détergent. Le désinfectant a été utilisé à une concentration sublétale (dose d'emploi divisée par 5) pour que l'effet synergique d'un détergent enzymatique dans un protocole combinant détergence et désinfection puisse être quantifié.

1.6. Analyse statistique des résultats

Chaque modalité expérimentale a été répétée au moins 3 fois. Les résultats présentés sont les moyennes des différents réplicas et leurs écarts-types calculés dans des feuilles de calcul Excel. Le test de Kruskal-Wallis a été appliqué avec l'aide du logiciel XLSTAT pour déterminer la significativité des différences entre les moyennes, avec un niveau de signification alpha de 0,05.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Impact de l'application d'une action mécanique sur la mesure de l'efficacité des détergents enzymatiques sur acier inoxydable

La suspension bactérienne obtenue après décrochage des biofilms d'*E. coli* est concentrée à hauteur de 7,5 ± 0,1 log UFC/ml. La densité des biofilms sur les coupons en acier inoxydable après 5 jours d'incubation à 25°C atteint donc 8,5 ± 0,1 log UFC/support en moyenne. Ces biofilms d'*E. coli* préparés en présence de fientes de poulet ont ensuite été soumis aux différents détergents enzymatiques.

Dans un premier temps, les détergents enzymatiques ont été appliqués par simple immersion des biofilms dans le produit (fig. 1). En l'absence d'action mécanique, l'impact mesurable des détergents enzymatiques sur les biofilms, en comparaison à un traitement à l'eau, est faible. A 20°C, seul le détergent A présente une activité significative avec une densité de biofilm réduite d'1 log en moyenne par rapport au témoin « eau » ($p<0.05$). A 30°C, seul le traitement avec le détergent C permet de réduire significativement la densité du biofilm par rapport au témoin (-2,75 log ; $p<0.05$).

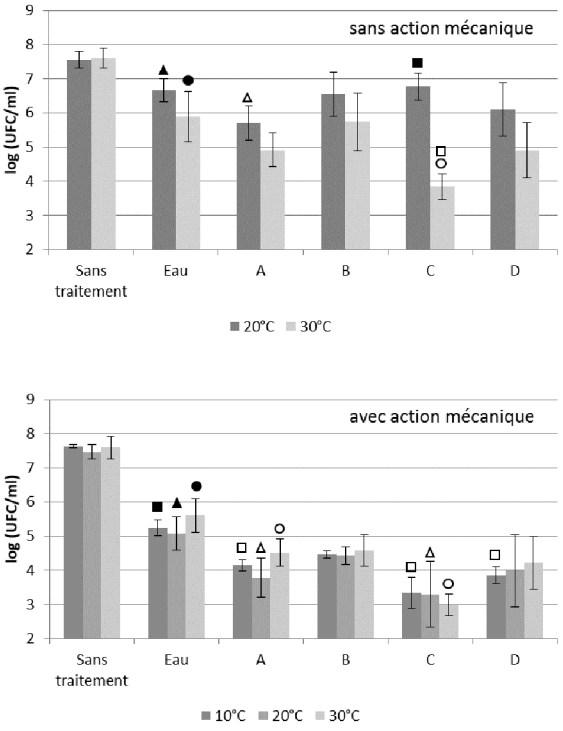


Figure 1. Impact de la détergence enzymatique sur la quantité de bactéries résiduelles (log UFC/ml) sur les coupons en acier inoxydable après traitement à différentes températures avec application ou non d'une action mécanique. La présence de symboles identiques montre qu'il existe une différence significative entre le traitement (symbole ouvert) et la condition témoin (symbole plein)(test de Kruskal-Wallis, $p<0,05$).

L'absence d'action mécanique pendant ou après l'application des détergents peut avoir un effet sur la mesure de l'efficacité des enzymes. Ceci s'est vérifié lorsque les traitements ont été réalisés sous agitation lente. Dans ces conditions, la simple application d'eau affecte fortement la structure des biofilms avec une réduction de la concentration en *E. coli* résiduelle supérieure à 2 log (fig. 1). Néanmoins, l'activité des détergents enzymatiques est plus facilement mise en évidence dans ces conditions puisque les détergents A et C se montrent tous deux efficaces comparativement au témoin ($p<0.05$) quelles que soient les températures d'application (-1 à -1,3 log de réduction pour A ; -1,7 à -2,6 log pour C). Le détergent D est également efficace à 10°C avec un biofilm résiduel réduit de 1,5 log en moyenne par rapport au traitement avec de l'eau ($p<0.05$).

Les fournisseurs recommandent en général l'application des détergents enzymatiques avec un canon ou une centrale à mousse. A la fin du temps de contact, les surfaces peuvent être rincées avec un nettoyeur haute pression. Les résultats décrits ici semblent montrer que cette étape de rinçage à haute pression peut être déterminante pour une efficacité optimale des détergents enzymatiques. En effet, une simple application en conditions statiques réduit significativement l'impact de la détergence sur le biofilm.

2.2. Impact de la température sur l'efficacité des détergents enzymatiques

En conditions statiques, l'efficacité du produit C est largement augmentée à 30°C par rapport à 20°C ($p<0.05$). En revanche, aucune différence significative d'efficacité n'a pu être observée pour les détergents enzymatiques à 10, 20 et 30°C lorsque les produits sont appliqués sous agitation (fig. 1). Selon nos résultats, l'étape de rincage sous pression a donc un impact plus important que la température d'application du détergent enzymatique.

2.3. Impact du matériau support des biofilms sur l'efficacité des détergents enzymatiques

L'acier inoxydable n'étant pas le seul matériau présent dans les différents maillons de la filière avicole, des essais complémentaires ont été réalisés, à 20°C, avec des supports en polyéthylène (PE) (fig. 2). La densité des biofilms obtenus sur PE est comparable à celle mesurée sur l'acier (8,5 ± 0,1 log UFC/support en moyenne).

Sur polyéthylène, en condition statique, l'utilisation des produits commerciaux n'a pas d'effet additionnel par rapport à l'eau. Avec agitation, le détergent A permet de réduire la densité du biofilm de 0,8 log. Cet effet est statistiquement significatif ($p<0.05$) mais reste très modéré. Pour le détergent C, une réduction de plus d'1 log est observée en moyenne mais la variabilité entre réplicas d'un même essai et entre les différents essais ne permet pas de conclure sur la significativité statistique de cet effet.

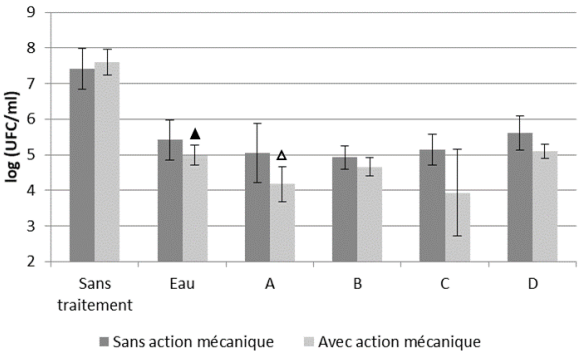


Figure 2. Impact de la détergence enzymatique à 20°C sur la quantité de bactéries résiduelles (log UFC/ml) sur les coupons en polyéthylène après traitement avec application ou non d'une action mécanique. La présence de symboles identiques montre qu'il existe une différence significative entre le traitement (symbole ouvert) et la condition témoin (symbole plein)(test de Kruskal-Wallis, $p<0,05$).

Ainsi, l'efficacité des détergents enzymatiques comparativement à un traitement simple avec de l'eau reste très modérée sur des biofilms d'*E. coli* établis sur des supports en polyéthylène. Les résultats obtenus avec l'eau qui, même en l'absence d'action mécanique, a un impact important sur la quantité d'*E. coli* résiduelle, suggèrent que les biofilms produits sur PE ont une structure plus fragile, plus sensible à la détergence, ou sont moins adhérents aux supports. Dans ces conditions, l'effet des enzymes pourrait être effectivement moindre ou masqué. Sur le terrain, les surfaces subissent des agressions chimiques et mécaniques régulières pouvant altérer les matériaux, et notamment le polyéthylène. Il pourrait donc être intéressant de tester à nouveau l'action des détergents enzymatiques sur des matériaux vieillis artificiellement favorisant l'adhésion des microorganismes.

2.4. Apport de la détergence enzymatique lors d'un traitement combinant détergence et désinfection

Les détergents enzymatiques agissent en permettant l'élimination des biofilms mais pourraient aussi fragiliser le biofilm résiduel, augmentant ainsi l'efficacité de la désinfection. Cet effet synergique entre détergence enzymatique et traitement avec le biocide a été apprécié en appliquant sur les biofilms d'*E. coli* une détergence avec le produit commercial C (le plus efficace en moyenne dans les essais précédents) suivie d'une désinfection modérée (tableau 1).

Tableau 1. Concentration en *E. coli* résiduelle (log UFC/ml) mesurée après application de traitements à 20°C sur les coupons en acier inoxydable, combinant détergence (eau ou enzymes, avec ou sans action mécanique) et désinfection.

Modalité	Dét. Enz.	Action méca.	Biocide	[*E. coli*] en log UFC/ml
1	Non	-	Non	7,9 ± 0,1
2	**Eau**	**Oui**	Non	6,3 ± 0,2
3	**Eau**	**Oui**	**Oui**	5,1 ± 0,3
4	**Dét. C**	**Oui**	Non	4,1 ± 0,3
5	**Dét. C**	**Oui**	**Oui**	2,9 ± 0,1
6	**Dét. C**	Non	Non	4,4 ± 0,2
7	**Dét. C**	Non	**Oui**	3,8 ± 0,2

Ces derniers résultats confirment l'intérêt de l'action mécanique sur l'efficacité de la détergence enzymatique (-0,3 log de biofilm résiduel sous agitation) et l'intérêt de l'utilisation d'enzymes comparativement à un simple nettoyage à l'eau (-2,2 log de biofilm résiduel). Cet effet du traitement enzymatique est également visible lorsqu'il est suivi de l'application d'un biocide à base d'ammoniums quaternaires et de glutaraldéhyde. En effet, la concentration en *E. coli* résiduelle après application des enzymes puis du désinfectant est de 3,9 log UFC/support contre 6,1 log UFC/support lorsque de l'eau est utilisée en détergence. Cependant, il est intéressant de noter que l'application du biocide entraîne une réduction décimale de 1,2 log de la concentration en *E. coli*, qu'un détergent enzymatique ait été utilisé ou non en amont de la désinfection. Ces résultats n'ont donc pas permis de mettre en évidence de « sensibilisation » du biofilm au traitement désinfectant après application du détergent C. Dans les conditions d'essai décrites ici, la meilleure efficacité d'un traitement « détergent enzymatique + biocide », comparativement au protocole « nettoyage à l'eau + biocide », réside dans l'élimination d'une plus grande partie du biofilm lors de la phase de détergence mais ne résulte pas d'une synergie entre l'action des enzymes et la désinfection. Un simple effet cumulatif entre les deux étapes du protocole de nettoyage et désinfection a été observé.

CONCLUSION

Les travaux décrits dans cet article démontrent l'intérêt des détergents enzymatiques pour l'amélioration de l'efficacité des procédures de nettoyage et désinfection dans la filière avicole. En effet, un gain significatif a pu être observé, pour deux des quatre produits commerciaux testés, lorsque des enzymes (amylases, protéases et lipases) sont utilisées comparativement à un traitement avec de l'eau. L'application d'une force mécanique permet d'améliorer l'efficacité des détergents enzymatiques. Ainsi le rinçage à haute pression après utilisation des enzymes, comme recommandé par la majorité des fournisseurs, permettra très probablement d'obtenir des résultats intéressants, quelle que soit la température à laquelle doit être appliqué le détergent enzymatique.

Ces résultats prometteurs obtenus sur des biofilms d'*E. coli* établis sur des coupons en acier inoxydable devront néanmoins être confirmés sur des biofilms pluri-espèces et sur d'autres matériaux comme, par exemple, des supports en PE non neufs et donc potentiellement plus adhérents.

De plus, même si ces essais ont été réalisés en prenant en compte les spécificités de la filière (croissance du biofilm en présence de fientes de poulet, choix de températures d'application réalistes…), l'intérêt des détergents enzymatiques ne pourra être clairement confirmé qu'après la réalisation d'études croisées sur les modes d'application et sur le terrain.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par le CASDAR, le CIPC, la FIA, le CNADEV et le CIFOG (projet 2019-2022 ADAPT) et a été réalisée dans le cadre de l'UMT Sanivol. Les auteurs remercient l'ensemble des entreprises ayant participé à cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Apostolakos *et al.*, 2021. Front. Vet. Sci. 2021 Sep (8):737720
Bridier *et al.*, 2011. Biofouling. 2011 Sep;27 (9):1017-1032.
Bridier *et al.*, 2015. Food Microbiol. 2015 Feb;45 (Pt B):167-78.
Delhalle *et al.*, 2020. Front Microbiol. 2020;11: 1827.
Fagerlund *et al.*, 2020. Molecules. 2020 Feb 12;25 (4):792.
Kemmett *et al.*, 2014. Avian Pathology. 2014 : (43):1, 37-42.
Ren *et al.*, 2013. Am J Infect Control. 2013 Sep;41 (9):e89-92.
Ripolles-Avila *et al.*, 2020. Int J Food Microbiol. 2020 Jun 16;323:108595.
Tsiaprazi-Stamou *et al*. 2019. Biofouling. 2019 Sep;35 (8):883-899.

ETUDE DE LA CAPACITÉ DES DÉTERGENTS ENZYMATIQUES À LUTTER CONTRE LES BIOFILMS D'*ESCHERICHIA COLI*

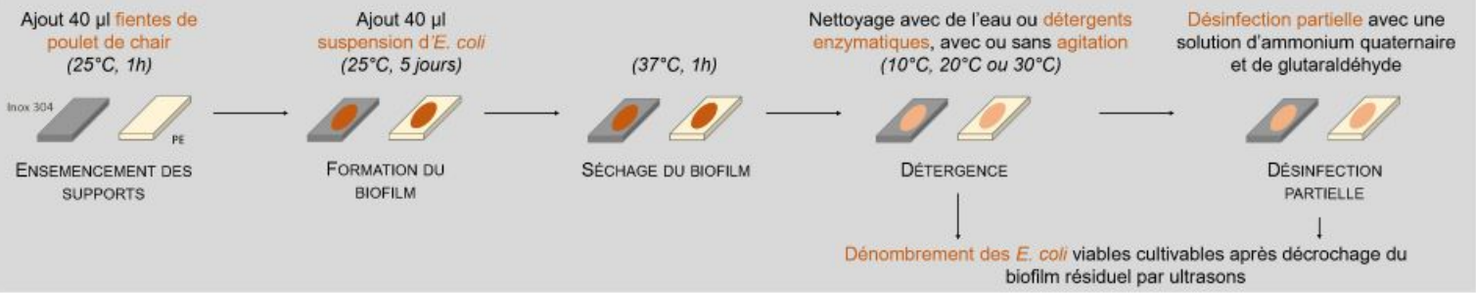
Hanin Aurélie[1], Levert Delphine[1], Soumet Christophe[2], Bridier Arnaud[2], Rousset Nathalie[3], Travel Angélique[3]

[1]*ACTALIA, Sécurité des Aliments, 310 rue Popielujko, 50 000 SAINT-LÔ*
[2]*ANSES, Laboratoire de Fougères, Bâtiment Bioagropolis, 10B Rue Claude Bourgelat, 35133 JAVENÉ*
[3]*ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonnière, 75009 PARIS*
a.hanin@actalia.eu

INTRODUCTION

La décontamination est une étape primordiale pour la sécurité sanitaire des produits alimentaires avicoles et le maintien de la biosécurité au sein des couvoirs et des élevages. Elle s'appuie sur l'utilisation de produits biocides désinfectants qui peuvent, pour la plupart, présenter des risques pour la santé des utilisateurs, l'environnement et/ou le matériel. Pour limiter leur usage, et donc l'exposition des travailleurs, des méthodes complémentaires peuvent être envisagées pour utiliser mieux et moins ces intrants chimiques. Le projet aDAPt comprend une étape dédiée à l'évaluation de procédés alternatifs ou complémentaires à l'utilisation de désinfectants, parmi lesquels les détergents enzymatiques. Le rôle des enzymes est de dégrader les souillures organiques pour faciliter l'action du détergent, déstructurer les biofilms bactériens et ainsi améliorer l'efficacité de la désinfection. La capacité de 4 détergents enzymatiques commerciaux à déstabiliser des biofilms d'*Escherichia coli* a été évaluée en présence d'une souillure organique représentative des élevages de poulet de chair.

MÉTHODE



RÉSULTATS

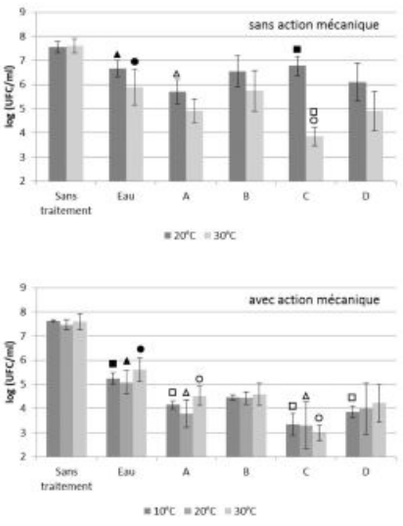


Figure 1. Impact de la détergence enzymatique sur la quantité de bactéries résiduelles (log UFC/ml) sur les coupons en acier inoxydable après traitement à différentes températures avec application ou non d'une action mécanique. La présence de symboles identiques montre qu'il existe une différence significative entre le traitement (symbole ouvert) et la condition témoin (symbole plein)(test de Kruskal-Wallis, p<0,05).

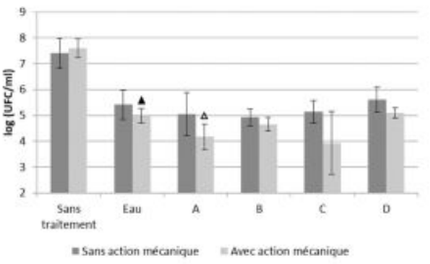


Figure 2. Impact de la détergence enzymatique à 20°C sur la quantité de bactéries résiduelles (log UFC/ml) sur les coupons en polyéthylène après traitement avec application ou non d'une action mécanique. La présence de symboles identiques montre qu'il existe une différence significative entre le traitement (symbole ouvert) et la condition témoin (symbole plein)(test de Kruskal-Wallis, p<0,05).

Tableau 1. Concentration en *E. coli* résiduelle (log UFC/ml) mesurée après application de traitements à 20°C sur les coupons en acier inoxydable, combinant détergence (eau ou enzymes, avec ou sans action mécanique) et désinfection.

Modalité	Dét. Enz.	Action méca.	Biocide	[*E. coli*] en log UFC/ml
1	Non	-	Non	7,9 ± 0,1
2	**Eau**	**Oui**	Non	6,3 ± 0,2
3	**Eau**	**Oui**	**Oui**	5,1 ± 0,3
4	**Dét. C**	**Oui**	Non	4,1 ± 0,3
5	**Dét. C**	**Oui**	**Oui**	2,9 ± 0,1
6	**Dét. C**	Non	Non	4,4 ± 0,2
7	**Dét. C**	Non	**Oui**	3,8 ± 0,2

- **L'application d'une action mécanique est nécessaire** pour mesurer l'effet de la plupart des détergents enzymatiques sur les biofilms d'*E. coli* (fig. 1) ;
- Une application à 30°C permet d'accroître l'efficacité du détergent C par rapport à 20°C, en conditions statiques (fig. 1) ;
- **Sous agitation, la température d'application n'a pas d'impact** sur l'efficacité des détergents enzymatiques (fig. 1) ;
- Pas de mise en évidence d'effet marqué des détergents enzymatiques sur les biofilms sur polyéthylène (PE) (fig. 2) ;
- En moyenne, le détergent enzymatique C est le plus efficace ;
- Le traitement « détergent enzymatique + biocide » plus efficace que le protocole « nettoyage à l'eau + biocide » du fait de **l'élimination d'une plus grande partie du biofilm lors de la phase de détergence** (tabl. 1);
- Pas de synergie démontrée entre l'action des enzymes et la désinfection (tableau 1).

CONCLUSION

Ces travaux démontrent l'intérêt des détergents enzymatiques pour l'amélioration de l'efficacité des procédures de nettoyage et désinfection dans la filière avicole. En effet, un gain significatif a pu être observé, pour deux des quatre produits commerciaux testés, lorsque des enzymes (amylases, protéases et lipases) sont utilisées comparativement à un traitement avec de l'eau. Néanmoins, du fait de l'impact important des modalités d'application, des essais en conditions pilotes puis sur le terrain sont nécessaires pour confirmer ces résultats prometteurs.

Remerciements

Cette étude a été financée par le CAS DAR, le CIPC, la FIA, le CNADEV et le CIFOG (projet 2019-2022 ADAPT) et a été réalisée dans le cadre de l'UMT Sanivol. Les auteurs remercient l'ensemble des entreprises ayant participé à cette étude.

CAPACITE DE FLORES DE BARRIERE A LIMITER L'IMPLANTATION ET LE DEVELOPPEMENT DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

Soumet Christophe[1], Ait Ahmed Azziza [1], Le Grandois Patricia [1], Rousset Nathalie[2], Travel Angélique [2], Hanin Aurélie[3], Bridier Arnaud [1]

[1]Anses, Laboratoire de Fougères, Bâtiment Bioagropolis, 10B Rue Claude Bourgelat, 35133 JAVENE
[2]ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonnière, 75009 PARIS
[3]ACTALIA, Sécurité des Aliments, 310 rue Popielujko, 50 000 SAINT-LO

christophe.soumet@anses.fr

RÉSUMÉ
L'utilisation des produits biocides désinfectants permet de garantir la sécurité sanitaire des produits alimentaires avicoles et de préserver la santé animale via le maintien de la biosécurité au sein des couvoirs et des élevages. Ces biocides peuvent présenter, selon leur usage, des risques en particulier pour la santé des utilisateurs (toxicité cutanée, respiratoire). Pour limiter l'exposition de ces travailleurs, des méthodes complémentaires sont envisagées afin de faire évoluer les pratiques vers une utilisation moindre et optimisée des biocides désinfectants. Le projet aDAPt évalue l'une de ces méthodes basées sur les flores de barrière (*Bacillus* sp. et flores lactiques). Celles-ci sont mises en place après l'opération de nettoyage et désinfection pour prévenir le développement d'un biofilm de *Salmonella* Typhimurium, choisi ici comme modèle de pathogène de la filière avicole. L'effet de la rémanence de l'activité bactéricide de formulations biocides commerciales, a été évaluée sur l'implantation des flores de barrière sur des coupons en polyéthylène. Pour 4 des 5 formulations biocides testées, aucun effet rémanent n'est observé après un temps d'attente de 18 h entre l'étape de désinfection et l'application des flores de barrière. Puis, pour évaluer la capacité de flores de barrière à limiter l'implantation de *S.* Typhimurium, celles-ci ont été cultivées sur des coupons en polyéthylène pendant 24 h dans différentes conditions, puis *S.* Typhimurium a été ajouté pendant 24 à 48 h avant d'être quantifié. L'inhibition de *Salmonella* est effective mais dépend fortement de la concentration des flores de barrière réellement implantées. La vitesse d'inhibition semble dépendre de la formulation des flores. Ces résultats permettent d'apporter des informations utiles sur les facteurs impactant l'efficacité des flores de barrière et sur leurs modalités d'utilisation.

ABSTRACT
The use of biocidal products makes it possible to guarantee the safety of poultry food products and the maintenance of biosecurity within hatcheries and farms. These biocides may present, depending on their use, risks in particular for the health of users (skin and respiratory toxicity). To limit the exposure of these workers, additional methods are considered in order to change practices towards a less and more optimized use of biocides. The aDAPt project assess the potentiality of one of these methods based on barrier flora. These barrier flora (*Bacillus* sp. and lactic bacteria) are settled after the cleaning and disinfection operation to prevent the development of a biofilm of *Salmonella* Typhimurium, chosen here as a pathogen model for the poultry industry. The effect of the biocidal activity remanence of commercial formulations on the development of barrier flora on polyethylene coupons was evaluated. For 4 of the 5 biocidal formulations tested, no residual effect was observed after a waiting time of 18 hours between the disinfection step and the application of the barrier flora. Then, to evaluate the capacity of barrier flora to limit the colonization of *S.* Typhimurium, the barrier flora were cultivated on polyethylene coupons for 24 hours under different conditions, then *S.* Typhimurium was added for 24 to 48 hours before being quantified. Inhibition of *Salmonella* is effective but varies depending on the nature and concentration of barrier flora. These results provide useful information on the factors affecting the effectiveness of barrier flora and on their methods of use.

INTRODUCTION

Les biocides désinfectants sont utilisés pour détruire les microorganismes pathogènes et la flore

d'altération afin de garantir un niveau élevé de protection de la santé humaine, animale et de l'environnement. Pour être autorisés sur le marché, ils doivent remplir certaines exigences réglementaires en termes d'efficacité, de toxicité, d'écotoxicité (Règlement Biocides CE 528/2012). Face à des exigences sociétale et environnementale fortes pour un usage plus raisonné des produits chimiques et à une absence de développement de nouveaux produits chimiques « plus verts » par l'industrie, des méthodes complémentaires telles que l'application de flores de barrière peuvent être envisagées.

Ces flores de barrière peuvent être exploitées dans l'industrie alimentaire (ateliers de production et de transformation) mais également en élevages pour contrôler l'écologie des surfaces et ainsi limiter l'implantation d'agents pathogènes. Elles peuvent être administrées directement aux animaux sous forme de probiotiques via leur alimentation ou dans l'eau de boisson. Les flores de barrière peuvent agir de différentes façons : i) par la colonisation d'une surface cible par les bactéries dites positives empêchant ainsi les pathogènes de s'implanter, cette barrière physique créant une compétition pour l'espace et pour les ressources ; ii) par la production de composés inhibiteurs (acides organiques ou des bactériocines). Une étude a démontré une réduction de la présence de *Salmonella* Enteritidis dans les fèces de ces animaux (Knap et al., 2011) ou dans le foie et le *caecum* des poules (Hayashi et al., 2018) lorsque les animaux étaient nourris avec un régime contenant des spores de *Bacillus subtilis*. La flore de barrière peut être également appliquée par pulvérisation dans l'élevage afin d'éviter une contamination des animaux par le contact avec les surfaces. La croissance de cette flore ajoutée volontairement se fait alors sous forme de biofilm dans l'environnement direct des animaux et limite l'implantation et le développement ultérieur de biofilms pathogènes. Cette méthode complémentaire aux procédures de nettoyage et désinfection appliquées dans l'élevage pourrait permettre de réduire l'usage des biocides les plus toxiques pour l'environnement et les opérateurs, tout en luttant contre l'augmentation de la transmission de pathogènes alimentaires (*Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Campylobacter, Listeria monocytogenes*). En effet, contrairement à l'action curative du biocide, le biofilm formé par la flore de barrière peut représenter une stratégie préventive, en empêchant l'implantation des pathogènes. De plus en plus de flores de barrière commerciales sont disponibles sur le marché et vendues sous différentes formes. Elles sont composées de consortia microbiens incluant majoritairement des bactéries lactiques et/ou du genre *Bacillus*. Leur utilisation tend à se développer dans la filière avicole, même si leur efficacité réelle reste mal évaluée et leur mécanisme d'action peu compris. Ce manque de connaissances justifie la volonté des acteurs de la filière de mieux comprendre les potentialités offertes par ces produits dans le cadre du projet aDAPt.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Souches bactériennes et flores de barrières

Trois flores de barrière commerciales (F1, F2, F3) constituées de *Bacillus* sp. et de bactéries lactiques, mais de formulation différentes, ont été étudiées. Sous forme de poudre, elles sont remises en suspension dans l'eau du réseau puis dénombrées sur milieux TSAYE (gélose Trypticase-Soja supplémentée avec de l'extrait de levure).

Salmonella enterica sérotype Typhimurium ATCC14028 (*S.* Typhimurium, isolée à partir de foie de poulet) a été choisie comme modèle de bactérie pathogène de la filière avicole. Des suspensions sont préparées par 3 repiquages successifs en bouillon TSBYE (Bouillon Trypticase-Soja supplémentée avec de l'extrait de levure) avant dénombrement sur milieu TSAYE.

1.2 Biocides désinfectants

A partir d'une enquête réalisée dans le cadre du projet aDAPt sur les produits biocides désinfectants utilisés dans la filière avicole, 5 produits commerciaux représentatifs des grandes familles de produits chimiques les plus utilisées ont été sélectionnés. Ils appartiennent à la famille des ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes (A), des chlorés (B), des peracides (C), des phénolés (D) et du monopersulfate (E).

1.3 Désinfection des coupons

Les coupons de polyéthylène (PE) (20*10*1 mm) (GoodFellow, Lille), matériau présent dans les différents maillons de la filière avicole, sont trempés pour dégraissage sous agitation dans de l'éthanol pur (30 min) puis rincés 5 fois avec de l'eau osmosée. Puis, ils sont désinfectés par trempage dans de l'éthanol 70% (5 min) puis dans l'eau osmosée (10 min) avant d'être séchés. Ils sont conservés stérilement dans une boite de Petri avant utilisation.

1.4 Implantation des flores de barrières sur coupons

L'implantation des flores de barrière sur des coupons PE a été évaluée :

- avant traitement par le désinfectant pour caractériser leur développement et

- après traitement pour évaluer l'effet rémanent potentiel du désinfectant sur les flores de barrière.
Les flores de barrière sont préparées dans de l'eau du réseau stérilisée en présence ou absence de fientes [20 g pour 100 g d'eau (pH : 5,3)] ou en TSBYE. Elles sont ensuite déposées sur les coupons PE (dépôt de 10^4 à 10^5 Unités Formant Colonies (UFC) (4 à 5 log par cm²). Les concentrations (0,8-1%) et les temps de contact (20-30 min) appliqués pour le traitement biocide sont en accord avec les préconisations du fournisseur. Pour l'effet rémanent, les coupons traités avec le biocide sont séchés à l'air libre de 18 h à 72 h avant d'être mis en contact avec les flores de barrière. Le dénombrement des flores de barrière est réalisé sur une gélose TSAYE.

1.5 Essais d'inhibition de *S.* Typhimurium par les flores de barrière

Les flores de barrière sont déposées sur les coupons PE (~4-5 log (UFC/cm^2)) et incubées 24 h à 48 h à 25 °C. Puis, une suspension de *S.* Typhimurium (~ 4 log (UFC/cm²)) mélangée avec des fientes pour simuler des conditions réelles de contamination, est ajoutée sur le coupon, lequel est incubé de nouveau 24-48 h à 25 °C. Après rinçage des coupons avec l'eau du réseau, les bactéries sont décrochées des coupons à l'aide d'ultra-sons avant d'être dénombrées. Pour évaluer l'inhibition de *Salmonella* par les flores de barrière, un dénombrement de *Salmonella* sur une gélose sélective M^c Conkey (24 h à 37°C) est réalisé en comparaison avec un coupon conditionné avec de l'eau du réseau (témoin sans flore) au lieu de la flore de barrière.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Impact de la rémanence des biocides sur les flores barrières

Le dépôt d'un inoculum de 4 à 5 log (UFC/cm²) pour les différentes flores de barrières F1, F2 et F3 a permis respectivement d'obtenir des niveaux de 5,13 ± 0,46 ; 4,93 ± 0,03 et 4,50 ± 0,1 log (UFC/cm²) sur les coupons PE après 24h dans de l'eau du réseau stérilisée, suggérant une bonne implantation des flores mais sans croissance notable (résultats non montrés).

Afin d'évaluer l'impact potentiel de résidus de biocides désinfectants sur l'implantation des flores, les coupons ont été désinfectés selon les recommandations des fournisseurs avec différentes solutions commerciales (Biocides A à E). Un temps d'attente de 18 à 72 h a été évalué entre l'étape de désinfection et l'étape d'implantation des flores comme décrit précédemment. La figure 1 regroupe les quantités de flores obtenues dans ces différentes conditions. Les résultats révèlent qu'un temps d'attente de 18 h après désinfection permet pour 4 des 5 formulations biocides testées (A à D) d'obtenir la même quantité de flore barrière que pour des coupons traités avec de l'eau dans les mêmes conditions, et cela pour les 3 flores testées. En revanche, pour les coupons traités avec le biocide E, une nette diminution de 1,82, 1,44 et 2,49 log (UFC/cm²) est observée pour les flores F1, F2 et F3 respectivement. Ce résultat témoigne d'un effet rémanent de la formulation biocide E (monopersulfate) qui, 18 h après application, impacte significativement l'implantation des flores sur les coupons. Après un temps d'attente de 72 h, cette diminution significative de la quantité de flores est encore visible à des niveaux similaires suggérant que l'augmentation du temps d'attente après désinfection ne permet pas d'éliminer cet effet rémanent du biocide E (résultats non montrés). Cela suggère qu'il faut être prudent dans l'association de la flore de barrière avec le désinfectant.

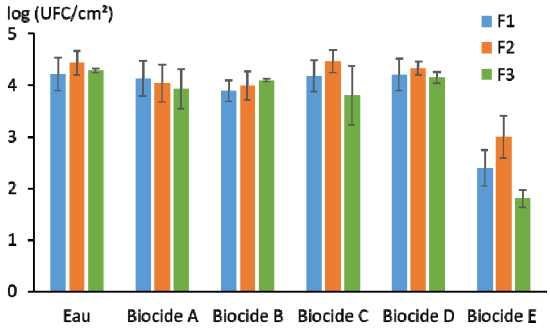


Figure 1. Impact de la désinfection sur la quantité de flores barrière (UFC/cm²) sur les coupons après un temps d'attente de 18 h après désinfection.

2.2 Efficacité de l'inhibition de *S.* Typhimurium par les flores de barrière

Afin d'évaluer la capacité des flores de barrière à limiter l'implantation de *Salmonella* sur les surfaces, 4 à 5 log (UFC/cm²) de *S.* Typhimurium ont été inoculés sur les coupons préalablement colonisés par les flores comme décrit en 2.1. La figure 2 présente les quantités de *S.* Typhimurium dénombrées en fonction des différentes flores de barrières (ou sur le témoin sans flore) à 24 ou 48 h après inoculation du pathogène.

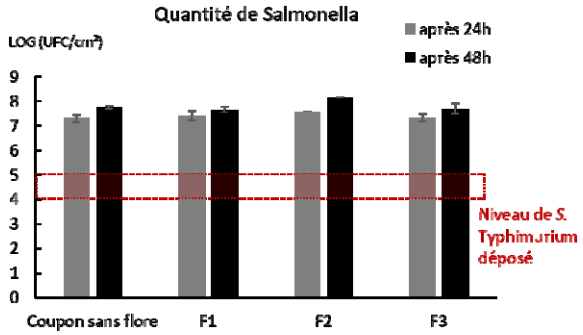


Figure 2. Quantités de *S.* Typhimurium (en log (UFC/cm²)) dénombrées 24 h ou 48 h après inoculation du pathogène sur des coupons colonisés par les flores de barrières F1, F2 et F3 développées dans l'eau du réseau en comparaison d'un coupon PE sans flore (témoin).

Les résultats montrent qu'à ces niveaux de concentrations, soit entre 4,50 et 5,13 log (UFC/cm²) (cf 2.1), les flores barrières ne permettent pas une diminution de la quantité de *S.* Typhimurium dénombrée pour les 3 flores testées en comparaison du coupon témoin sans flore. Au contraire, *S.* Typhimurium parvient à se développer pour atteindre environ 7 log (UFC/cm²) dès 24 h après inoculation, ces quantités ne variant pas significativement après 48 h.

2.3 Evaluation de l'apport de matière organique sur le développement des flores de barrière et impact sur l'inhibition de *S.* Typhimurium

Afin de tester le potentiel des flores, à des concentrations plus élevées, à inhiber l'implantation et le développement du pathogène, les conditions de culture des flores sur coupons ont été modifiées, en testant l'effet de l'apport de matière organique sur la charge par cm² de flores de barrière obtenue. Pour cela, les flores ont été cultivées soit en présence de TSBYE, soit dans l'eau du réseau supplémentée avec des fientes lyophilisées (substrat organique riche et rencontré sur le site d'élevage).

Les premiers essais montrent que le dépôt d'un inoculum de 4 log (UFC/cm²) pour les différentes flores de barrières F1, F2 et F3 a permis respectivement d'obtenir des niveaux de 7,07 ; 7,56 et 5,22 log (UFC/cm²) sur les coupons PE après 24 h en TSBYE, démontrant la capacité des flores à croitre dans ces conditions, malgré des différences quantitatives en fonction des flores (résultats non montrés). En présence de fientes dans de l'eau du réseau, les niveaux de flores après 24 h étaient respectivement de 7,76 ; 4,06 et 8,00 log (UFC/cm²) pour les flores F1, F2 et F3. Ce résultat révèle une hétérogénéité de la réponse des flores dans ces conditions avec les flores F1 et F3 capables de croitre fortement en présence de matière organique (fientes). Inversement, la flore F2 demeurait à une quantité d'UFC/cm² comparable à celle de l'inoculum (environ 4 log UFC/cm²), et ne semblait pas capable de croitre en présence de fientes contrairement à ce qui est observé en présence de TSBYE.

Afin d'évaluer l'effet de ces différents niveaux de flores sur la capacité d'inhibition de *S.* Typhimurium, 4 à 5 log (UFC/cm²) du pathogène ont été inoculés sur les coupons PE préalablement colonisés par les flores en présence de fientes. La figure 3 présente les quantités de *S.* Typhimurium dénombrées 24 h ou 48 h après inoculation du pathogène. Les résultats montrent une disparité de l'efficacité des flores à inhiber l'implantation du pathogène, qui est en partie dépendante des niveaux en UFC/cm² de flores de barrière. Les flores F1 et F3 (7 à 8 log (UFC/cm²)) sont capables d'inhiber significativement *S.* Typhimurium. La flore F1 démontre une efficacité totale dès 24 h alors que des niveaux d'inhibition comparables sont atteints en 48 h par la flore F3. Les coupons avec la flore F2, en revanche, présentent des quantités de *S.*Typhimurium comparables à celles dénombrées sur les coupons sans flore.

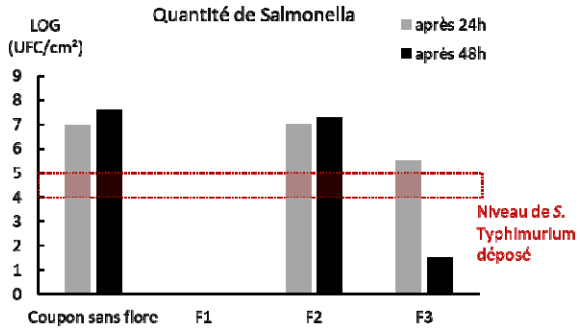


Figure 3. Quantités de *S. Typhimurium* (en log (UFC/cm²)) dénombrées 24 h ou 48 h après inoculation du pathogène sur des coupons colonisés par les flores de barrières F1, F2 et F3 développées en présence de fientes, en comparaison d'un coupon PE sans flore (témoin).

Cela est à mettre en relation avec les faibles niveaux de flores F2 obtenus dans ces conditions en présence de fientes (~4 Log (UFC/cm²)), similaires à ceux obtenus sans apport de matières organiques dans l'eau du réseau (cf 2.1).

CONCLUSION

Des résultats prometteurs ont été obtenus avec les flores de barrières car celles-ci, dans des conditions favorables à leur développement, limitent très significativement la formation de biofilms de *S.* Typhimurium. Un faible impact de la désinfection sur le développement des flores de barrière, pour la majorité des produits biocides de différentes familles chimiques, a été démontré dans le cadre de ces expérimentations de laboratoire simulant des

conditions pratiques, à l'exception du biocide E. Dans ce dernier cas, un rinçage préalable après désinfection et avant application des flores de barrière est fortement recommandé lorsque que ce type de substance active est utilisée. De plus, les résultats montrent que la quantité de flores de barrière doit être suffisante (~6-7 log UFC par cm^2) pour réduire efficacement la colonisation des surfaces par *Salmonella*. La présence de matière organique dans les environnements d'élevage peut également impacter le développement des flores barrières de manière spécifique en fonction du produit utilisé, ce qui souligne l'importance de maitriser les étapes de nettoyage au préalable. Ces éléments permettent d'éclairer les acteurs de la filière sur les facteurs majeurs modulant l'efficacité des flores de barrière et pourront être évalués par des études sur le terrain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Knap I. et al., 2011. Poult Sci (90), 1690–1694.
Hayashi R.M. et al., 2018. Front Vet Sci (5), 13.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par le CAS DAR, le CIPC, la FIA, le CNADEV et le CIFOG (projet 2019-2022 aDAPt) et a été réalisée dans le cadre de l'UMT Sanivol. Les auteurs remercient l'ensemble des entreprises ayant participé à cette étude.

Capacité des flores de barrière à limiter l'implantation et le développement de *Salmonella* Typhimurium

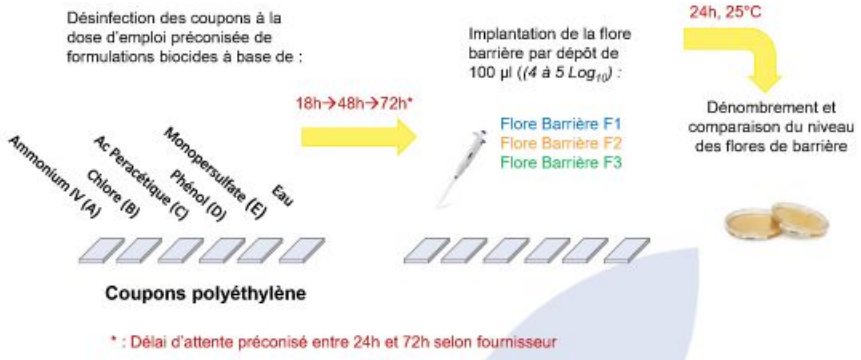
Soumet Christophe[1] , Ait Ahmed Azziza [1], Le Grandois Patricia [1], Rousset Nathalie[2] , Travel Angélique [2], Hanin Aurélie[3] , Bridier Arnaud [1]

[1] Anses, Laboratoire de Fougères, Bâtiment Bioagropolis, 10B Rue Claude Bourgelat, 35133 Javené.
[2] ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonnière, 75009 Paris.
[3] ACTALIA, Sécurité des Aliments, 310 rue Popielujko, 50 000 Saint Lô.

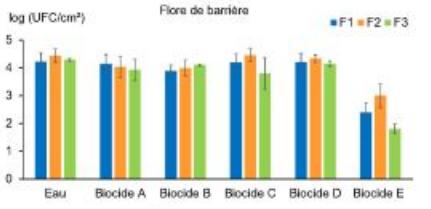
INTRODUCTION

Les produits désinfectants représentent un risque pour la santé des utilisateurs. Pour limiter l'exposition de ces travailleurs, des méthodes complémentaires sont envisagées pour faire évoluer les pratiques vers une utilisation moindre et optimisée de ces produits biocides. Le projet aDAPt évalue une de ces méthodes basées sur des flores de barrière composées d'espèces de *Bacillus* sp et de flore lactique. Celles-ci sont appliquées après l'opération de nettoyage et désinfection pour prévenir le développement d'un biofilm de *Salmonella* Typhimurium, choisi comme pathogène modèle de la filière avicole. L'effet de la rémanence des désinfectants puis l'efficacité des flores de barrière à limiter l'implantation de *Salmonella* ont été évalués dans des expérimentations de laboratoire simulant des conditions terrain.

1- Impact de la rémanence potentielle de biocides sur l'implantation des flores de barrière

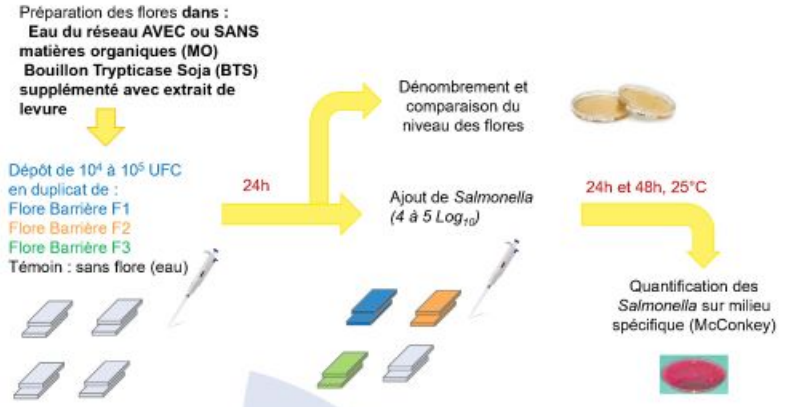


* : Délai d'attente préconisé entre 24h et 72h selon fournisseur

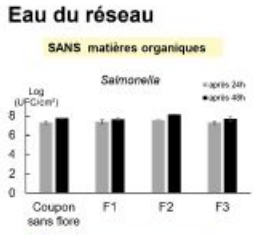


Rémanence du biocide E visible après 72h conduisant à une réduction de 1 à 2 Log_{10} de la flore de barrière

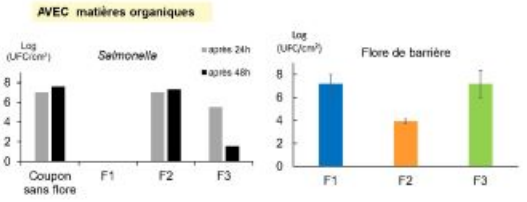
2- Apport de matières organiques sur le développement des flores de barrière et impact sur l'inhibition de l'implantation de *Salmonella* Typhimurium



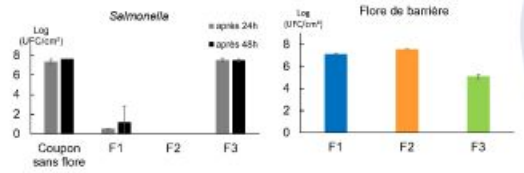
Eau du réseau



- Pas de diminution de *Salmonella* pour les différentes flores de barrière
- Croissance de *Salmonella* 24h après dépôt sur le support
- Présence de 10^4 UFC de flore par cm^2 après 24h (résultats non montrés)



Bouillon de culture (BTS)



Disparité de l'efficacité des flores de barrière à inhiber l'implantation de *Salmonella* dépendante de la concentration de la flore de barrière :

Totale avec F1 après 24h en présence eau +MO ou BTS
Totale avec F2 uniquement avec le milieu BTS
Totale avec F3 après 48h et partielle après 24h en présence eau + MO

•CONCLUSION

Dans nos conditions expérimentales, les flores de barrière sont efficaces pour limiter de manière significative l'implantation de *Salmonella* Typhimurium sur un support et la formation de biofilms. Cette efficacité est dépendante de la concentration de flore de barrière qui doit être suffisamment élevée (10^{6-7} UFC par cm^2). Le milieu servant à la préparation de la flore de barrière a un impact sur la concentration obtenue selon les flores de barrière testées.
La plupart des produits biocides ne sont pas rémanents et par conséquent l'étape de désinfection ne perturbe pas le développement de la flore de barrière. Ces éléments permettent d'éclairer les acteurs de la filière sur les facteurs majeurs modulant l'efficacité de flores de barrière et pourront être évalués par des études sur le terrain.

Remerciements

Cette étude a été financée par le CAS DAR, le CIPC, la FIA, le CNADEV et le CIFOG (projet 2019-2022 ADAPT) et a été réalisée dans le cadre de l'UMT Sanivol. Les auteurs remercient l'ensemble des entreprises ayant participé à cette étude.

CPER Inflectio 200151
UNION EUROPÉENNE UNANIEZH EUROPA
L'Europe s'engage en Bretagne
AVEC LA CONTRIBUTION FINANCIÈRE DU COMPTE D'AFFECTATION SPÉCIALE DÉVELOPPEMENT AGRICOLE ET RURAL
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

EFFETS DE *PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI* ET *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* SUR L'ENTERITE NECROTIQUE SUBCLINIQUE INDUITE EXPERIMENTALEMENT CHEZ LE POULET DE CHAIR

Rachid Merati [1*]. Ali Alaa Abdel-Fattah Mohamed[2]. Zahra Berrama[3]. Hebib Aggad[1]. Abdelhamid Hammoudi[1]. Soraya Temim[3]

[1]Laboratory of Hygiene and Animal Pathology, University of Tiaret, Algeria
[2]Veterinary Serum and Vaccine Research Institute, Cairo, Egypt.
[3]Laboratoire de Recherche « Santé et Production Animales », Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger, Algérie.
drmerachi@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Au cours des dernières décennies, l'incidence de l'entérite nécrotique (EN) chez le poulet de chair, causée par *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*), a considérablement augmenté. L'objectif de cette étude est d'étudier l'intérêt de l'utilisation de 2 probiotiques, *Pediococcus acidilactici* (*P. acidilactici*) et *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cervisiae*), pour prévenir l'EN dans un modèle d'infection expérimentale par *C. perfringens* chez les poulets de chair soumis à un facteur prédisposant (coccidies). Au total, 150 poussins de poulets de chair, répartis en cinq groupes (6 répétitions de 5 poussins/cage), ont été élevés en cages pendant 29 jours : T0 (groupe témoin, non infecté, non supplémenté) ; groupe T1 (infecté par *C. perfringens*, non supplémenté) ; groupe T2 (infecté par *C. perfringens* et coccidies, non supplémenté) ; groupe T3 (infecté par *C. perfringens* et coccidies, supplémenté par *P. acidilactici*) ; Groupe T4 (infecté par *C. perfringens* et coccidies, supplémenté par *S. cerevisiae*). L'impact de la supplémentation alimentaire en ces deux probiotiques a été évalué sur les performances zootechniques, la mortalité, les paramètres lésionnels ainsi que le dénombrement iléal en *C. perfringens* par PCR quantitative en temps réel. L'utilisation de coccidies associées à des inoculations par *C. perfringens* a permis une reproduction expérimentale d'une EN subclinique. Les effets indésirables de l'infection ont entrainé une conversion alimentaire médiocre, une augmentation du score lésionnel (≤ 2) et une prolifération de la population intestinale de *C. perfringens*. La supplémentation en *P. acidilactici* ou *S. cerevisiae* a significativement amélioré la conversion alimentaire, réduit nettement les lésions intestinales et diminué la population intestinale de *C. perfringens*. En conclusion, ces résultats suggèrent que la supplémentation alimentaire en probiotiques (*P. acidilactici* ou *S. cerevisiae*) pourrait être bénéfique pour atténuer les effets négatifs d'une EN subclinique chez les poulets de chair.

ABSTRACT

Effects of *Pediococcus acidilactici* and *Saccharomyces cerevisiae* on broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens* induced subclinical necrotic enteritis

Over the past decades, the incidence of necrotic enteritis (NE) in broilers, caused by *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*), has increased significantly. The objective of this study was to evaluate the effects of *Pediococcus acidilactici* (*P. acidilactici*) and *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) on growth performance, intestinal lesions and ileal *C. perfringens* count of broilers challenged with *C. perfringens* inducing sub-clinical NE. A total of 150 chicks, allocated into five treatment groups (6 replicates of 5 chicks/cage), were reared in cages for 29 days: T0 (control group, not infected, not supplemented); T1 group (infected with *C. perfringens*, not supplemented); T2 group (infected with *C. perfringens* and coccidia, not supplemented); T3 group (infected with *C. perfringens* and coccidia, supplemented with *P. acidilactici*); T4 group (infected with *C. perfringens* and coccidia, supplemented with *S. cerevisiae*). The parameters analyzed were zootechnical performances, mortality, intestinal lesion score and ileal *C. perfringens* enumeration using quantitative real-time PCR. The challenge resulted in the impairment of growth performance, an increased lesion score (≤ 2) and the overgrowth of *C. perfringens* population. Supplementation by *P. acidilactici* or *S. cerevisiae* caused a significant improvement in feed conversion, net reduction of gut lesions as well as decrease of intestinal *C. perfringens* population. In conclusion, these results suggested that the dietary supplementation with probiotics (*P. acidilactici* or *S. cerevisiae*) could be beneficial to alleviate the negative effects of subclinical NE in broilers.

INTRODUCTION

L'utilisation à grande échelle et en continu d'antibiotiques chez les animaux de consommation n'est pas sans conséquence, cette pratique a suscité des inquiétudes face aux risques d'émergence de résistance bactériennes (Van Immerseel *et al*., 2004). En janvier 2006, la commission européenne a interdit l'usage des antibiotiques comme promoteurs de croissance, cette loi a été appliquée par la suite en Algérie en décembre 2006 (Décision ministérielle n° 472 du 24 Décembre 2006, portant sur l'utilisation des additifs dans l'alimentation animales).
Suite au retrait des antibiotiques dans l'aliment, les producteurs de volailles ont observé une recrudescence de l'EN au sein des élevages, une maladie intestinale causée par *C. perfringens* (Van Immerseel *et al.,* 2009).
La communauté scientifique a déployé beaucoup d'efforts au cours des dernières années afin d'identifier des stratégies alternatives pouvant être utilisées en remplacement de ces promoteurs de croissance afin d'assurer le contrôle de l'EN dans les élevages de poulets de chair (Hume, 2011; Eeckhaut *et al*., 2016; Zhou *et al*., 2016; Xue *et al*., 2017). L'utilisation des probiotiques comme alternative dans le contrôle de cette maladie semble être intéressante. Dans ce contexte, la présente étude a pour objectif d'étudier l'intérêt de l'utilisation des probiotiques, *P. acidilactici* et *S. cerevisiae*, comme moyens de prévention dans un modèle d'infection expérimentale par *C. perfringens* chez les poulets de chair soumis à un facteur prédisposant (coccidies).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

180 poussins d'un jour (sexes mélangés) de souche Cobb500, provenant du même couvoir ont été pesés, triés et identifiés. Par la suite, 150 sujets ont été sélectionnés sur la base du poids et répartis en cinq groupes (n=30) de poids moyen homogène (41,09 ± 0,35 g). Chaque groupe a été divisé de manière aléatoire en 6 lots de 5 sujets, puis chaque lot a été placé dans une cage d'une superficie de 0,4 m^2: soit 5 poulets par cage et 6 cages par groupe. La température a été maintenue à 33°C à l'arrivée des poussins, puis réduite progressivement de 3°C chaque semaine jusqu'à la fin de l'essai. L'éclairage était assuré par 2 néons (24h/24). Les poulets ont reçu deux aliments de base adaptés à l'âge, sous forme de farine (tableau 1) : un aliment « démarrage » distribué entre J0 et J15, un aliment « croissance » distribué de J16 à J28.

1.2. Déroulement de l'essai

L'infection expérimentale a été réalisée selon les modèles expérimentaux établis précédemment (Shojadoost *et al*., 2012). Les poussins ont été élevés dans des cages et ont reçu, *ad libitum*, un aliment standard sans additifs (Groupes T0, T1et T2) ou supplémenté en probiotiques, à base de *P. acidilactici* (Groupe T3; BACTOCELL® à la dose de $1x10^9$ UFC/kg d'aliment) ou de *S. cerevisiae* (Groupe T4; LEVUCELL®SB à la dose de $1x10^9$ UFC/kg d'aliment) jusqu'à la fin de l'expérience. Les doses de probiotiques utilisées sont celles recommandées par le fabriquant. A l'âge de 15 jours, les groupes T2, T3 et T4 ont reçu le vaccin vivant anticoccidien HIPRACOX® (HIPRA, S. A., Espagne) composé de souches atténuées de différentes espèces de coccidies dont *Eimeria maxima*. Le vaccin a été administré par voie orale (10 fois la dose préconisée). Du 18ème jour au 20ème jour, les groupes T1, T2, T3 et T4 ont reçu, individuellement, la culture bactérienne d'une souche toxinogène de *C. perfringens* type A par voie orale à la dose de 3 ml (10^8 UFC/ml), une fois par jour. La souche bactérienne a été fournie par l'institut de recherche des sérums et vaccins vétérinaires, le Caire, Egypte. Elle a été isolée à partir de cas d'EN du terrain chez les poulets de chair. L'essai sur les animaux a été réalisé en respectant les recommandations du conseil scientifique de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger, Algérie.

1.3. Mesures réalisées

Performances zootechniques et mortalité.

En vue d'apprécier l'évolution du poids vif, une pesée individuelle de tous les poulets a été effectuée à J0, J15 et J28, par la suite le poids moyen de chaque groupe a été calculé. L'ingéré alimentaire a été calculé à J15 et J28. Le gain de poids et l'indice de consommation (IC) ont été calculés pour chaque période (J0-J15, J15-J28 et J0-J28). La mortalité a été enregistrée quotidiennement.

Notation des lésions d'EN.

Les notations des lésions ont été réalisées à l'âge de J21 et de J28, sur 2 poulets par lot (choix aléatoire). Cette dernière a été faite selon le barème décrit par Dahyia *et al.* (2005).

Dénombrement iléal en C. perfringens par RT-qPCR.

L'estimation de la population totale de *C. perfringens* par RT-qPCR a été réalisée à l'âge de J21 et de J28. L'extraction et l'amplification ont été réalisées selon la méthode de Green and Sambrook (2012). Les résultats ont été exprimés en $\log_{10}$ nombre de copies d'ADN par gramme de contenu iléal.

1.4. Analyse statistique

Les différents résultats sont décrits par la moyenne et l'erreur standard (SE, calculée à partir de la déviation standard SD selon la formule $SE = SD/n^{0,5}$;n étant le nombre de répétitions).
L'homogénéité de la variance entre traitements est vérifiée par le test de Bartlett. Dans les cas où ce test est significatif ($p<0,05$), les moyennes des groupes sont comparées par le test non paramétrique de Mann-

Whitney. Lorsque le test de Bartlett s'avère non significatif (p>0,05), les résultats sont soumis à une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1) afin de déterminer l'effet du traitement sur les paramètres considérés. Le seuil de signification choisi est d'au moins 5%.
Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du programme StatView (Abacus Concepts, 1996, Inc., Berkeley, CA94704-1014, USA).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Dans la présente étude, nos résultats ont révélé une amélioration significative du gain de poids et de l'indice de consommation des poulets qui ont reçu une alimentation supplémentée en probiotiques (*P. acidilactici* ou *S. cerevisiae*), et cela avant l'inoculation de *C. perfringens* et du vaccin anticoccidien (à J15) (Tableau 1), confirmant ainsi les résultats d'études antérieures montrant que les probiotiques ont un rôle potentiel dans l'amélioration des performances de croissance chez les poulets de chair (Zhou *et al*., 2016; Wang *et al*., 2017).

Apres infection par une overdose (17 550 oocystes/sujet) du vaccin anticoccidien (à J15) et inoculation de *C. perfringens* pendant 3 jours, une augmentation significative de l'indice de consommation a été enregistrée pour le groupe infecté par *C. perfringens* et non supplémenté en probiotiques par rapport au groupe témoin (tableau 2). Cet effet négatif de l'infection par *C. perfringens* pourrait être lié aux dommages causés à la muqueuse intestinale susceptibles d'affecter l'absorption des nutriments et donc leur utilisation, se traduisant ainsi par une baisse des performances de croissance (Dahiya *et al*., 2007). Notons que le groupe T2 a présenté des valeurs d'indice de consommation significativement supérieures par rapport au groupe T1. Ceci suggère que l'utilisation du vaccin anticoccidien avec une dose de 17 550 oocystes comme facteur prédisposant est capable d'amplifier l'effet négatif d'une infection par *C. perfringens*. Ces résultats sont en accord avec les résultats des travaux de Abudabos et Yehia (2013); Abudabos et Alyemni (2013) et Eeckhaut *et al*. (2016).

En comparant les groupes infectés et supplémentés en probiotiques avec le groupe T2, aucune différence significative n'a été enregistrée pour le gain de poids (tableau 1). Par contre, nous avons constaté une diminution significative de l'indice de consommation, très probablement lié à la légère baisse de l'ingéré alimentaire (tableau 2). Ceci traduit une meilleure efficacité digestive qui pourrait être liée à l'action de ces probiotiques. Hofacre *et al.* (2003) ont rapporté les mêmes résultats en examinant l'effet du Mannane-oligosaccharide dérivé de la levure *S. cerevisiai* dans un modèle expérimental d'EN, et ont conclu qu'il n'y avait pas de différence significative pour le gain de poids, mais une amélioration significative au niveau de la conversion alimentaire.

Selon les résultats enregistrés pour le score lésionnel et le dénombrement iléal de *C. perfringens* (tableau 3), l'utilisation du vaccin anticoccidien 10 fois la dose associée à une infection par *C. perfringens* a provoqué une augmentation du score lésionnel et du nombre de *C. perfringens* par rapport au groupe infecté T1 qui lui-même a présenté un score et un nombre de *C. perfringens* plus élevés de manière significative par rapport au groupe T0 (témoin, non infecté, non supplémenté). Ces résultats sont en accord avec plusieurs études qui ont utilisé le vaccin anticoccidien 10 fois la dose associé à *C. perfringens* pour reproduire expérimentalement une EN (Abudabos et Yehia, 2013; Abudabos et Alyemni, 2013; TOSI *et al.*, (2013); Eeckhaut *et al*., 2016; Zhou *et al*., 2016).

Nos résultats montrent une diminution significative du score lésionnel et du nombre de *C. perfringens* au niveau des groupes infectés et supplémentés en probiotiques (*P. acidilactici* ou *S. cerevisiae*) par rapport au groupe T2 (tableau 3). Cela suggère un effet potentiellement protecteur de ces probiotiques pour prévenir les lésions observées dans le cadre de ce modèle. Ces résultats sont similaires aux résultats des travaux de M'Sadeq *et al*. (2015) qui ont rapporté que la supplémentation alimentaire en paroi cellulaire de la levure *S. cerevisiae* est efficace dans la réduction des lésions induites par une infection expérimentale à *C. perfringens*. Par contre, d'autres études ont enregistré un effet négatif de la supplémentation de *Saccharomyces cerevisiae* et de ces dérivés sur les lésions dues à une infection à *C. perfringens* (Hofacre *et al*., 2003; Ao *et al*., 2012). Ces variations entre les études peuvent être expliquées par la nature de l'effet protecteur de la levure qui est indirect en renforçant l'immunité et en améliorant le développement de la microflore intestinale, réduisant ainsi les effets néfastes des agents pathogènes, ce qui pourrait expliquer des réponses différentes d'un hôte à l'autre.

En ce qui concerne la bactérie lactique probiotique (*P. acidilactici*), plusieurs travaux ont rapporté un effet bénéfique de l'utilisation des bactéries lactiques probiotiques dans la prévention des lésions engendrées par une infection à *C. perfringens* (Jayaraman *et al*., 2013 ; Tactacan *et al*., 2013).

CONCLUSION

En conclusion, les résultats de la présente étude montre que pour atténuer les effets négatifs d'une entérite nécrotique subclinique chez les poulets de chair, la supplémentation alimentaire en probiotiques (*P. acidilactici* ou *S. cerevisiae*) s'avère bénéfique en ce qui concerne la conversion alimentaire et le score lésionnel dans les conditions testées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abudabos, A. M., Yehia, H. M. 2013. Effect of dietary mannan oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* on live performance of broilers under *Clostridium perfringens* challenge. Ital. J. Anim. Sci. 12 (2) e38. doi: 10. 40 81/ijas. 20 13.e38

Abudabos, A. M., Alyemni, A.H., 2013. Effects of the Essential Oil Blend CRINA® Poultry in Feed on Broiler Performance and Gut Microbiology. Ital. J. Anim. Sci. 12(4) 4, e83.doi: 10.4081/ijas.2013.e83

Ao, Z., Kocher, A., Choct, M., 2012. Effects of dietary additives and early feeding on performance, gut development and immune status of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. Asian-australas. J. Anim. Sci. 25, 541-551. doi:10.5713/ajas.2011.11378

Dahiya, J.P., Hoehler, D., Van Kessel, A.G., Drew, M.D., 2007. Dietary encapsulated glycine influences *Clostridium perfringens* and Lactobacilli growth in the gastrointestinal tract of broiler chickens. J. Nutr. 137, 1408–1414.

Dahiya, J.P., Hoehler, D., Wilkie, D.C., Van Kessel, A.G., Drew, M.D., 2005. Dietary glycine concentration affects intestinal *Clostridium perfringens* and lactobacilli populations in broiler chickens. Poult. Sci. 84 (12), 1875–1885.

Eeckhaut, V., Wang, J., Van Parys, A., Haesebrouck, F., Joossens, M., Falony, G., Raes, J., Ducatelle, R., Van Immerseel, F., 2016. The Probiotic Butyricicoccus pullicaecorum Reduces Feed Conversion and Protects from Potentially Harmful Intestinal Microorganisms and Necrotic Enteritis in Broilers. Front. Microbiol. 7, 1416. doi: 10.3389/fmicb.2016.01416

Green, M. R., J. SAMBROOK (2012): Molecular Cloning.A Laboratory Manual. 4th ed. Vol 1, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, p 1885.

Hofacre, C. L., Beacorn, T., Collett, S., Mathis, G., 2003. Using competitive exclusion, mannan oligosaccharide and other intestinal products to control necrotic enteritis. J. Appl. Poult. Res. 12, 60–64. doi: 10.1093/japr/12.1.60

Jayaraman, S., Thangavel, G., Kurian, H., Mani, R., Mukkalil, R., Chirakkal, H., 2013. Bacillus subtilis PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. Poult. Sci. 92, 370–374. doi: 10.3382/ps.2012-02528

Hume, M.E. 2011. Historic perspective: prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. Poult. Sci. 90(11), 2663-2669. doi: 10.3382/ps.2010-01030

M'sadeq, S. A., WU, S. B. Choct, M. Forder, R. Swick, R. A. 2015: Use of yeast cell wall extract as a tool to reduce the impact of necrotic enteritis in broilers. Poult. Sci. 94, 898-905. doi: 10.3382/ps/pev035

Shojadoost, B., Vince, A.R., Prescott, J.F., 2012. The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens*: a critical review. Vet. Res. 43,74. doi: 10.1186/1297-9716-43-74.43.

Tactacan, G. B., Schmidt, J. K., Miille, M. J., Jimenez, D. R., 2013. A Bacillus subtilis (QST 713) spore-based probiotic for necrotic enteritis control in broiler chickens, J. Appl. Poult. Res. 22 (4), 825–831, doi.org/10. 33 82/ japr. 2013-00730

Tosi, G. Massi, P. Antongiovanni, M. Buccioni, A. Minieri, S. Marenchino, L. Mele, M. (2013): Efficacy test of a hydrolysable tannin extract against necrotic enteritis in challenged broiler chickens. Ital. J. Anim. Sci. 12, 392-395. doi: 10.4081/ijas.2013.e62.

Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F., Ducatelle, R, 2004. *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. Avian. Pathol. 33, 537-549.

Van Immerseel, F., Rood, J.I., Moore, R.J., Titball, R.W., 2009. Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in chickens. Trends. Microbiol. 17, 32-36.

Wang, H., Ni, X., Qing, X., Zeng, D., Luo, M., Liu, L., Li, G., Pan, K., Jing, B., 2017. Live Probiotic *Lactobacillus johnsonii* BS15 Promotes Growth Performance and Lowers Fat Deposition by Improving Lipid Metabolism, Intestinal Development, and Gut Microflora in Broilers. Front. Microbiol. 8, 1073. doi:10.3389/fmicb.2017.01073

Xue, G-D., Wu, S-B., Choct, M., Swick, R. A., 2017. Effects of yeast cell wall on growth performance, immune responses and intestinal short chain fatty acid concentrations of broiler in an experimental necrotic enteritis model. Anim. Nutr. doi: 10.1016/j.aninu.2017.08.002

Zhou, M., Zeng, D., Ni, X., Tu, T., Yin, Z., Pan, K., Jing B., 2016. Effects of *Bacillus licheniformis* on the growth performance and expression of lipid metabolism-related genes in broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. Lipids. Health. Dis. 15(1), 1–10. doi:10.1186 /s 12944-016-021

Tableau 1. Poids vif et gain de poids des poulets mesurés durant l'essai.

Paramètres	n=	T0	T1	T2	T3	T4	SEM	*p*=
Poids vif (g)								
J0	30	41,07	41,00	41,50	40,80	41,10	0,35	0,67
J15	30	267,83^{a}	267,20^{a}	266,83^{a}	290,20^{b}	312,83^{c}	7,20	<0,0001
J28	18	843,78	819,83	784,50	844,56	847,11	21,48	0,21
Gain de poids (g)								
J0 – J15	30	226,77^{a}	226,20^{a}	225,33^{a}	249,40^{b}	271,73^{c}	7,25	<0,0001
J15 – J28	18	576,67	550,39	537,89	552,89	541,56	22,12	0,86
J0 – J28	18	802,33	779,07	742,56	803,50	806,17	21,49	0,26

T0: poulets témoins non inoculés et non supplémentés en probiotiques. T1 : poulets inoculés par *C. perfringens* et non supplémentés en probiotiques. T2 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et non supplémentés en probiotiques. T3 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et supplémentés avec le probiotique *P. acidilactici*. T4 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et supplémentés avec le probiotique *S. cerevisiae*. SEM : Erreur standard moyen.

Tableau 2. Ingéré alimentaire et indice de consommation des poulets mesurés durant l'essai.

Paramètres	n=	T0	T1	T2	T3	T4	SEM	*p*=
Ingéré (g)								
J0 – J15	30	371,77^{a}	393,18^{c}	383,70^{bc}	376,00^{ab}	387,43^{bc}	3,85	0,01
J15 – J28	18	1002,11^{a}	1038,09^{b}	1035,11^{b}	1022,55^{b}	991,44^{a}	5,53	<0,0001
J0 – J28	18	1373,88^{a}	1431,28^{d}	1418,81^{cd}	1398,55^{bc}	1378,88^{ab}	7,98	<0,0001
IC (g/g)								
J0 – J15	30	1,68^{bc}	1,81^{c}	1,79^{c}	1,52^{ab}	1,46^{a}	0,06	<0,0001
J15 – J28	18	1,77	1,94	2,32	1,90	1,89	0,16	0,40
J0 – J28	18	1,72^{a}	1,86^{bc}	1,97^{c}	1,77^{ab}	1,73^{ab}	0,06	0,03

T0: poulets témoins non inoculés et non supplémentés en probiotiques. T1 : poulets inoculés par *C. perfringens* et non supplémentés en probiotiques. T2 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et non supplémentés en probiotiques. T3 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et supplémentés avec le probiotique *P. acidilactici*. T4 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et supplémentés avec le probiotique *S. cerevisiae*. SEM : Erreur standard moyen.

Tableau 3. Scores lésionnels et nombre de *C. perfringens* mesurés chez les poulets à l'âge de 21 et de 28 jours (n=12).

Paramètres	T0	T1	T2	T3	T4	SEM	*p*=
Score lésionnel							
J21	0,17^{a}	0,83^{b}	1,42^{b}	0,33^{a}	0,33^{a}	0,14	<0,0001
J28	0,17^{a}	1^{b}	1,25^{b}	0,42^{a}	0,42^{a}	0,13	<0,0001
Nombre de *C. perfringens* (moyenne, log_{10} copies/g de contenu iléal)							
J21	0.00^{a}	7 .24^{bc}	7.74^{b}	4.48^{a}	4.65^{ac}	0.64	<0,0001
J28	0.00^{a}	7.55^{b}	8.09^{b}	2.13^{a}	3.32^{a}	0.69	<0,0001

T0: poulets témoins non inoculés et non supplémentés en probiotiques. T1 : poulets inoculés par *C. perfringens* et non supplémentés en probiotiques. T2 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et non supplémentés en probiotiques. T3 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et supplémentés avec le probiotique *P. acidilactici*. T4 : poulets inoculés par *C. perfringens* et le vaccin anticoccidien et supplémentés avec le probiotique *S. cerevisiae*. SEM : Erreur standard moyen

EFFET DE TROIS PRODUITS PROBIOTIQUES SUR DES POULETS DE CHAIR SOUMIS A UN CHALLENGE ENTERITE NECROTIQUE A *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

Hofacre Charles[1], Raspoet Ruth[2], Auclair Eric[2], Rondel Elen[2], Gaydos TJ[3], Kiros Tadele[4]

[1]SOUTHERN POULTRY RESEARCH GROUP - 96 Roquemore Rd – GA 30607 ATHENS, USA
[2]PHILEO BY LESAFFRE - 137 rue Gabriel Péri- 59700 MARCQ-EN-BAROEUL
[3]Gaydos Technical Services, LLC, Dallas, Texas, USA
[4]PHILEO BY LESAFFRE - 7475 West Main Street- WI 53214 MILWAUKEE, USA

e.rondel@phileo.lesaffre.com

RÉSUMÉ

L'entérite nécrotique (EN), causée par *Clostridium perfringens* (CP) est une maladie bactérienne responsable de considérables pertes économiques, dues à son impact négatif sur la santé intestinale et le taux de survie en poulet de chair. Une des solutions à la disposition de l'industrie afin de prévenir les entérites nécrotiques est la supplémentation des aliments avec des probiotiques connus pour améliorer la santé et le bien-être animal.
L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de quatre produits administrés dans l'aliment (paroi de levure A : 250 g/t, et 3 probiotiques : B, C et D, à 5, 6,2 et 5,5 log CFU/g d'aliment, respectivement) sur la réduction des effets de CP (indice de consommation, poids vif, mortalité) dans des conditions de challenge entérite nécrotique. 3000 poussins d'un jour ont été assignés à 6 groupes de 10 cases par groupe et 50 poulets par case : i) un groupe contrôle négatif non inoculé (Nctrl) et un contrôle positif inoculé (Pctrl) ; (ii) 4 groupes traitement (A, B, C, D). Après administration d'un challenge *E .maxima* à J14, l'EN a été induite par ajout de CP dans l'eau de boisson à une dose de $1x10^8$ CFU/mL à J18 et J19. L'évaluation a été effectuée sur 42 jours. A J35, les groupes traitements présentaient un poids vif plus élevé et un indice de consommation (IC) plus faible que les groupes Nctrl et Pctrl (10% et 16% en moyenne, respectivement). A J42, les groupes traités présentaient tous un IC significativement meilleur que le groupe PCtrl (1,81), avec l'IC ajusté le plus faible pour le groupe B (1,72). Les animaux des groupes A, B, C et D présentaient un poids vif plus élevé comparé à Pctrl. Les probiotiques n'ont cependant pas permis de réduire la mortalité. Le produit B, utilisé à la plus faible concentration dans l'aliment, a présenté des performances supérieures aux autres probiotiques testés.

ABSTRACT

Evaluation of the effect of three probiotic products to control *Clostridium perfringens* induced necrotic enteritis in broilers

Necrotic enteritis (NE) caused by *Clostridium perfringens* (CP) is a devasting bacterial disease responsible for considerable economic losses, due to its negative impact on intestinal health and high mortality in broilers. To prevent NE, supplementing probiotic in feed has been considered as a solution, and seems to improve both bird health status and animal welfare. The present study aims at assessing the effect of four products administered in the feed (yeast fractions A: 250g/t, and 3 probiotic products: B, C and D at 5, 6.2 and 5.5 log CFU/g of feed, respectively) in reducing the effects of CP (feed conversion, body weight and mortality) in a moderate NE challenge. 3000 day-of-hatch chicks were assigned to six groups: (i) two control groups, negative control without NE challenge (Nctrl) and positive control (Pctrl) with NE challenge; (ii) four treated groups (A, B, C, D) with ten-replicate pens per group and 50 birds per pen. The trial lasted 42 days. After the administration of an *E.maxima* challenge à D14, NE was induced by adding CP to the water at dose $1x10^8$ CFU/ml on d 18 and 19. On d 35, treated groups had lower FCR and heavier body weight than both Nctrl and Pctrl (10% and 16% on average respectively). At d 42, group B had the lowest mortality adjusted FCR (1.72) compared to D (1.76). Animals from groups A, B, C, D had higher body weight compared to Pctrl, although none of the probiotics was able to reduce mortality. Although probiotic B was used at the lowest concentration in feed it outperforms other probiotics products.

INTRODUCTION

Clostridium perfringens (CP) est une bactérie commensale du tube digestif des volailles avec la capacité de sporuler (Opengart, 2008), la rendant ainsi très résistante à une variété de conditions environnementales. Il n'est donc pas surprenant qu'elle soit communément retrouvée dans les litières, constituant ainsi un réservoir de contaminations potentielles. La période à risque de flambée des cas d'entérite nécrotique (EN), maladie causée par CP, s'échelonne ordinairement de 2 à 6 semaines d'âge (Hunter et al., 2019). La plupart des cas d'EN reste au stade subclinique, mais provoquent des dommages sur l'intestin de manière chronique (Wu et al., 2019), engendrant alors une mauvaise absorption des nutriments, une baisse du gain de poids et une baisse globale des performances (Elwinger et al., 1992). Certains facteurs, comme les infections à coccidies du genre *Eimeria*, favorisent la croissance de souches de CP toxinogènes, à l'origine de lésions intestinales caractéristiques de la maladie (Timermont et al., 2011). Ces infections à CP sont responsables de pertes économiques considérables pour l'industrie, estimées à 6 milliards de dollars à l'échelle mondiale (Wade and Keyburn, 2015).

Plusieurs études ont examiné l'efficacité de différentes souches de *Bacillus spp*. à réduire les populations de CP dans l'intestin, les risques de développement d'EN et/ou à en atténuer les effets négatifs (Jayaraman et al., 2013, Schoster et al., 2013, Whelan et al., 2018). La capacité à sporuler des bactéries Gram positives du genre *Bacillus* en font des candidats probiotiques particulièrement intéressants pour l'industrie de la volaille, grâce à leurs capacités à résister aux processus de granulation et à l'environnement gastrique des animaux (Elshaghabee et al., 2017). Des études *in vivo* ont montré que les probiotiques à base de *Bacillus* permettaient la réduction des populations de CP, modulaient le microbiote intestinal et augmentaient les performances des animaux (Whelan et al., 2018, Xu et al., 2018). L'objectif de cette étude était donc d'évaluer les effets d'un probiotique à base de 3 souches de *Bacillus* pour réduire les effets négatifs d'une EN induite sur le poids vif, l'indice de consommation et la mortalité, en comparaison avec deux autres produits probiotiques et une paroi de levure.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

Trois mille (3000) poussins mâles d'un jour Ross x Ross ont été sexés au couvoir et envoyés à la station Southern Poultry Research Group (Athens, USA), où ils ont été vaccinés à l'aide d'un vaccin coccidiose commercial, au dosage recommandé par le fournisseur.

La mortalité et la morbidité ont été mesurées quotidiennement, et les animaux morts ou malades ont été retirés de l'essai.

Aucun antibiotique n'a été utilisé durant toute la durée de l'expérimentation.

Les pratiques effectuées sur les animaux étaient conformes au Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching (FASS, 1999).

1.2. Design expérimental et traitements

Les 3000 oiseaux ont été assignés aléatoirement à l'un des 6 groupes (10 répétitions par groupe, 50 animaux par case) et placés dans des cases de 1,5 x 3 m (densité de 11 oiseaux/m²), contenant une litière à base de copeaux de bois. Lors de leur placement (J0), le poids vif du groupe a été mesuré. L'eau et l'aliment ont été distribués *ad libitum*.

Les aliments de type commercial, contenaient des matières premières communément utilisés aux USA, selon la segmentation suivante : démarrage de J0 à J14, distribué sous forme de miettes ; croissance de J14 à J35, distribué sous forme granulée ; et finition de J35 à J42, distribué sous forme granulée.

Les traitements incluaient : deux groupes contrôles, négatif (Nctrl) et positif (Pctrl) recevant l'aliment commercial de base, un groupe A recevant l'aliment de base supplémenté avec une paroi de levure à 250g/t, un groupe B recevant l'aliment de base supplémenté avec le probiotique B (*Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus pumilus, Bacillus licheniformis* agrémentés d'une technologie de germination accélérée (Go Technology®), Microsaf®, Phileo by Lesaffre) à 5 log CFU/g, un groupe C recevant l'aliment de base supplémenté avec le probiotique C (*Bacillus licheniformis*) à 6,2 log CFU/g, un groupe D recevant l'aliment de base supplémenté avec le probiotique D (*Bacillus subtilis*) à 5,5 log CFU/g. Les dosages de chaque probiotique correspondaient à ceux recommandés par les fournisseurs.

A l'exception du groupe Nctrl, tous les groupes ont été soumis à un challenge EN.

Le poids vif (PV) a été mesuré par case à J0, J14, J35 et J42. Les quantités d'aliments intégrées dans les mangeoires ont été enregistrées à J0, J14 et J35 (au début des phases démarrage, croissance et finition respectivement), et à la fin de chaque phase d'alimentation (J14, J35, J42), les quantités restantes ont été mesurées. L'ingestion quotidienne moyenne a été déduite de la soustraction entre ces deux valeurs. L'indice de consommation (IC) a été calculé en fonction des données de PV et de consommation d'aliment et corrigé de la mortalité, pour chaque traitement et chaque phase alimentaire.

L'évaluation statistique des données a été réalisée avec le logiciel Statistix pour Windows (logiciel analytique, Tallassee, FL). Tous les paramètres ont été

soumis à un test de Student, considérant le traitement comme l'effet principal.

1.3. Challenge, échantillonnage et analyse

Le modèle de challenge EN consistait en l'administration du vaccin coccidiose à J0 et de la souche de *Clostridium perfringens* #6 (CP#6) via eau de boisson (Hofacre et al., 1998).
Afin de favoriser la colonisation de CP dans le tube digestif, une solution contenant des oocystes d'*E. maxima* (20mL par case) a été pulvérisée dans les mangeoires à J14 en plus de la vaccination coccidiose à J0 (Tableau 1). La souche de CP#6 a préalablement été mise en culture pendant 15 heures à 37°C dans 500 mL de milieu de thioglycollate contenant 2% d'extrait de bœuf, atteignant la concentration de $1x10^8$ CFU/mL.
L'aliment et l'eau ont été retirés, pour tous les groupes, dont le groupe Nctrl, deux à trois heures avant l'administration de CP#6, à J18 et J19. Une quantité mesurée d'eau (environ 125 mL de CP#6 pour 75 mL d'eau) a été utilisée pour chaque case correspondant aux groupes challengés, avec une consommation dans les 30 min. Une fois cette solution consommée, l'eau et l'aliment ont été restitués dans les cases.
Afin de vérifier le succès du challenge EN, les scores lésionnels à EN ont été mesurés à J21. Les scores lésionnels ont été comparés via une analyse non paramétrique de Kruskal-Wallis.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

A J14, soit avant le challenge, aucune différence significative n'a été observée entre les lots sur tous les paramètres étudiés.
Les scores lésionnels, mesurés à J21, étaient significativement plus élevés pour tous les groupes challengés par rapport au groupe Nctrl, montrant le succès du challenge EN (Tableau 2). Aucun produit n'a cependant montré d'effet significatif sur ces scores lésionnels comparativement au groupe Pctrl.
Le poids vif du groupe Pctrl, inoculé avec *E .maxima* et CP a diminué significativement comparativement au groupe Nctrl, puisqu'à 35 jours, le groupe Pctrl présentait un poids vif inférieur de 70g (1,72 kg vs 1,65 kg, $p<0,05$) (Tableau 3). La supplémentation avec tous les produits testés a conduit à l'augmentation significative du poids vif, non seulement comparativement au Pctrl mais également au Nctrl. De plus, l'ingestion par les animaux des groupes traités était supérieure à celle des animaux du groupe Pctrl sans pour autant atteindre celle des animaux des groupes Nctrl, résultant ainsi en une diminution significative de l'IC ajusté dans les groupes traités. Parmi ces traitements, les produits B et C présentaient les meilleurs IC (1,62 pour ces deux traitements vs 1,76 pour Pctrl, $p<0,05$) et les meilleurs poids vifs (1,85 kg et 1,88 kg respectivement, vs 1,65 pour Pctrl, $p<0,05$).
A 42 jours, les groupes Nctrl et Pctrl présentaient des IC ajustés similaires (1,79 vs 1,81) mais une différence de poids vif de 90g (2,32 kg vs 2,23 kg, $p<0,05$) (Tableau 4). A cet âge, tous les traitements ont réduit significativement l'IC comparativement aux 2 groupes contrôle. Parmi les produits testés, le produit B a permis d'obtenir l'IC le plus faible comparativement au Pctrl (1,72 vs 1,81, $p<0,05$), et était même significativement meilleur que celui obtenu avec le produit C (1,72 vs 1,76, $p<0,05$). Les produits B et C présentaient le poids vif le plus élevé (2,41 kg et 2,43 kg respectivement). Le taux de mortalité n'est pas diminué avec les produits testés, en comparaison des groupes Nctrl et Pctrl. Toutefois le produit B a permis de le réduire légèrement, mais de manière non significative (8,2% vs 8,8%), par rapport aux autres produits.
Tous les produits ont démontré leur efficacité à réduire l'impact négatif (IC, poids vif) de l'EN, dans les conditions expérimentales du modèle utilisé ici, sur les poulets en améliorant les performances zootechniques. Ils ne permettent cependant pas de réduire la mortalité. Notre étude a également montré la capacité de certains produits testés ici à améliorer les performances zootechniques des animaux comparativement au groupe Nctrl, montrant des effets bénéfiques de la supplémentation de manière globale. Notre étude l'a également démontré puisque la majorité des produits amélioraient les performances comparativement au groupe Nctrl.
Le produit B a clairement montré un impact positif sur les performances des animaux, même supérieur à celui des autres probiotiques testés, alors qu'il présentait le dosage le plus faible. Il était également le seul à être basé sur une combinaison de trois souches de *Bacillus*, pouvant présenter une complémentarité de modes d'action, ainsi qu'une technologie d'accélération de la germination, pouvant expliquer sa meilleure capacité à impacter positivement les performances testées dans notre étude.

CONCLUSION

Dans cette étude, un challenge EN (CP+*E.maxima*) a été appliqué avec succès, comme semblent le montrer les indicateurs de cette étude, c'est-à-dire une diminution du poids vif et une augmentation de l'IC. Les différents produits testés ont tous montré leur efficacité à réduire l'impact de l'inoculation sur ces mêmes paramètres. Le probiotique B, présentant le dosage en CFU/g d'aliment le plus faible et comprenant 3 souches différentes, a été le plus efficace pour améliorer les performances mesurées dans cette étude sur les animaux challengés. Ces résultats obtenus en conditions expérimentales suggèrent un potentiel intéressant d'application sur le terrain en vue d'améliorer la gestion de l'EN.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Elshaghabee F.M.F, Rokana N., Gulhane R.D., Sharma C., Panwar H., 2017. Front. Microbiol., 8, 1-15
Elwinger, K., Schneitz, C., Berndtson, E., Fossum, O., Teglöf, B., and Engstöm, B., 1992. *Acta Vet. Scand.* 33, 369–378.
Hofacre, C.L.,Froyman R., Gautrias B., George B., Goodwin M.A., and Brown J., 1998. Avian Diseases 42:579-584.
Hunter J.G., Wilde S., Tafoya A.M., Horsman J., Yousif M., Diamos A.G., Roland K.L., Mason H.S., 2019. PeerJ 7:e6600
Jayaraman S., Thangave G., Kurian H., Mani R., Mukkali R., Chirakka H., 2013. Poult. Sci., 92, 370-374
Opengart K., Saif Y.M., Fadley A.M, Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K., Swayne D.E., 2008. Wiley-Blackwell Publishing, Ames, Iowa (2008), pp. 872-879
Santoso U., Tanaka K., Ohtani S., 1995. Br. J. Nutr., 74, 523-529
Schoster A., Kokotovic B., Permin A., Pedersen P.D., Dal Bello F., Guardabassi L., 2013. Anaerobe, 20 (2013), pp. 36-41
Xu S., Lin Y., Zeng D., Zhou M., Zeng Y., Wang H., Zhou Y., Zhu H., Pan K., Jing B., Ni X., 2018. Sci. Rep., 8, 1744.
Timbermont, L., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., and Van Immerseel, F.,2011. Avian Pathol. 40, 341–347
Wade B. and KeyburnA., 2015. World Poultry 31: 16-17.
Whelan R.A., Doranalli K., Rinttil T., Vienola K., Jurgens G., Apajalahti J., 2018. Poult. Sci., pp. 1-14
Wu Y., Zhen W., Geng Y., Wang Z., Guo Y., 2019. Sci Rep 9(1):10256

Tableau 1. Description des principaux événements

Age	Description des événements
0	Pesée de l'aliment démarrage Vaccination coccidiose Allocation des animaux par case Pesée des animaux par case
14	Administration de 20mL *E.maxima* par case dans les mangeoires (sauf groupe Nctrl) Pesée des restes de l'aliment démarrage Pesée des animaux par case
18	Challenge avec CP (sauf groupe Nctrl) dans l'eau après retrait de l'eau et l'aliment pendant 2-3h
19	Challenge avec CP (sauf groupe Nctrl) dans l'eau après retrait de l'eau et l'aliment pendant 2-3h
35	Pesée des animaux par case Pesée des restes de l'aliment croissance
42	Pesée des animaux par case Pesée des restes de l'aliment finition Fin de l'étude

Tableau 2. Scores lésionnels à EN à J21

Groupe	Score lésionnel EN
Contrôle négatif (Nctrl)	0,00 b
Contrôle positif (Pctrl)	0,63 a
Paroi de levure A (250 g/t)	0,40 a
Probiotique B (5 log CFU/g)	0,63 a
Probiotique C (6,2 log CFU/g)	0,47 a
Probiotique D (5,5 log CFU/g)	0,57 a

Tableau 3. Performances à J35

Groupe	Ingestion (g/jour)	IC ajusté	Poids vif (kg)
Contrôle négatif (Nctrl)	138,44 a	1,74 a	1,72 c
Contrôle positif (Pctrl)	131,17 c	1,76 a	1,65 d
Paroi de levure A (250 g/t)	132,09 bc	1,62 b	1,84 ab
Probiotique B (5 log CFU/g)	136,31 ab	1,62 b	1,85 a
Probiotique C (6,2 log CFU/g)	135,14 abc	1,62 b	1,88 a
Probiotique D (5,5 log CFU/g)	134,64 abc	1,65 b	1,80 b

Tableau 4. Performances à J42

Groupe	Ingestion (g/jour)	IC ajusté	Poids vif (kg)	Mortalité (%)
Contrôle négatif (Nctrl)	189,92 a	1,79 a	2,32 c	5,4 b
Contrôle positif (Pctrl)	179,59 b	1,81 a	2,23 d	8,8 ab
Paroi de levure A (250 g/t)	179,20 b	1,73 bc	2,40 ab	13,0 a
Probiotique B (5 log CFU/g)	186,48 ab	1,72 c	2,41 a	8,2 ab
Probiotique C (6,2 log CFU/g)	184,39 ab	1,74 bc	2,43 a	11,4 a
Probiotique D (5,5 log CFU/g)	182,91 ab	1,76 b	2,34 bc	9,6 ab

ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE TROIS PROBIOTIQUES POUR CONTRÔLER L'ENTÉRITE NÉCROTIQUE INDUITE PAR *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* CHEZ LES POULETS DE CHAIR

Charles L. Hofacre[1], Anis Hedhli[2], Ruth Raspoet[2], TJ Gaydos[2], Tadele Kiros[2], et Eric Auclair[2]

[1] Southern Poultry Research Group, Watkinsville, GA, États-Unis;
[2] Phileo by Lesaffre, France et États-Unis.

RÉSUMÉ

Dans cette étude, un challenge entérite nécrotique (*Clostridium perfringens* + *E.maxima*) a été appliqué avec succès, comme semblent le montrer les indicateurs de cette étude, c'est-à-dire une diminution du poids vif et une augmentation de l'IC. Les différents produits testés ont tous montré leur efficacité à réduire l'impact de l'inoculation sur ces mêmes paramètres. Le probiotique B, présentant le dosage en CFU/g d'aliment le plus faible et comprenant 3 souches différentes, a été le plus efficace pour améliorer les performances mesurées dans cette étude sur les animaux challengés. Ces résultats obtenus en conditions expérimentales suggèrent un potentiel intéressant d'application sur le terrain en vue d'améliorer la gestion de l'EN.

ETUDE

Réf.	Description du traitement	Challenge à *E. Maxima*	Challenge à *Clostridium perfringens*[1]	Case/ traitement	Animaux/ case
T1	Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin négatif)	NON	NON	10	10
T2	Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin négatif)	j14*	j18 et j19	10	50
T3	Produit A - Parois levure (250 g/t)	j14*	j18 et j19	10	50
T4	Produit B - Probiotique (Log 5 CFU/g)	j14*	j18 et j19	10	50
T5	Produit C - Probiotique (Log 6,2 CFU/g)	j14*	j18 et j19	10	50
T6	Produit D - Probiotique (Log 5,5 CFU/g)	j14*	j18 et j19	10	50

[1]j18 et j19 : *Clostridium perfringens* a été ajouté dans les abreuvoirs vides à une dose d'environ 1 x 10^8 UFC/ml/animal.
*2 000 ookystes d'*Eimeria maxima*/animal sur les mangeoires
j = âge des animaux

MATERIELS ET MÉTHODES

Aliments : miettes de démarrage, granulés de croissance et granulés de finition.

Aliments conformes aux recommandations du NRC ; maïs et tourteau de soja (pas de sous-produit animal).

Pratiques de soins aux animaux conformes au *Guide for the Care and Use of Agriculture Animals in Agricultural Research and Teaching* (FASS, 1999).

Scores lésionnels*



*Hofacre, et al., 1998 Avian Dis. 42:579-584



STATISTIQUES

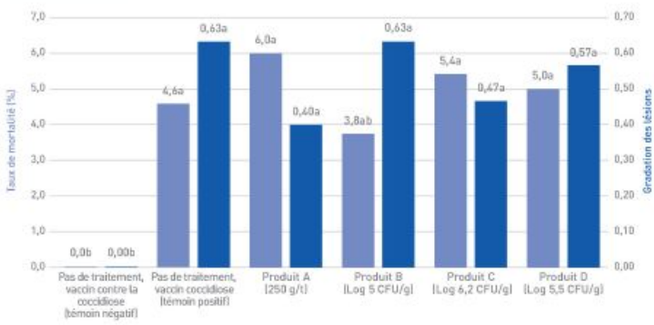
Ont été calculées, par cage, les moyennes des gains de poids, des consommations alimentaires (CA), des indices de consommation (IC, corrigés selon la mortalité : aliments consommés/poids vifs finaux + poids de mortalité), des lésions lésionnels d'EN et de la mortalité associée à l'EN.

Mortalité évaluée par les lésions macroscopiques à l'autopsie - foies hypertrophiés de couleur sombre et présence d'une pseudomembrane typique de l'EN dans l'intestin grêle.

Évaluation statistique réalisée à l'aide de STATISTIX pour Windows (Analytical Software, Tallahassee, FL, États-Unis).

Modèle linéaire général utilisant l'ANOVA avec une comparaison des moyennes basée sur la différence la moins significative (t-test) (LSD (T)) à un niveau de signification de 0,05.

RÉSULTATS



Résultats de performances, j0 - j14				
Traitement	**CA**	**IC ajusté***	**IC non ajusté**	**Gain de poids (kg)**
1. Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin négatif)	22.39ab	1.33c	1.34c	0.35a
2. Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin positif)	22.07b	1.38ab	1.39ab	0.33b
3. Produit A (1/2 livre par tonne américaine)	22.20ab	1.34bc	1.35bc	0.34ab
4. Produit B (Log 5 CFU/g)	22.78ab	1.35bc	1.36bc	0.34ab
5. Produit C (Log 6,2 CFU/g)	23.23a	1.41a	1.41a	0.34ab
6. Produit D (Log 5,5 CFU/g)	22.83ab	1.35bc	1.36bc	0.35ab

*IC ajusté selon la mortalité

Résultats de performances, j0 - j35				
Treatment	**CA**	**IC ajusté***	**IC non ajusté**	**Gain de poids (kg)**
1. Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin négatif)	138.44a	1.74a	1.76a	1.72c
2. Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin positif)	131.17c	1.76a	1.81a	1.65d
3. Produit A (1/2 livre par tonne américaine)	132.09bc	1.62b	1.69b	1.84ab
4. Produit B (Log 5 CFU/g)	136.31ab	1.62b	1.66b	1.85a
5. Produit C (Log 6,2 CFU/g)	135.14abc	1.62b	1.67b	1.88a
6. Produit D (Log 5,5 CFU/g)	134.64abc	1.65b	1.70b	1.80b

*IC ajusté selon la mortalité

Résultats de performances, j0 - j42					
Treatment	**CA**	**IC ajusté***	**IC non ajusté**	**Gain de poids (kg)**	**% de la mortalité totale**
1. Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin négatif)	189.92a	1.79a	1.82ab	2.32c	5.40b
2. Pas de traitement, vaccin coccidiose (témoin positif)	179.59b	1.81a	1.86a	2.23d	8.80ab
3. Produit A (1/2 livre par tonne américaine)	179.20b	1.73bc	1.82ab	2.40ab	13.00a
4. Produit B (Log 5 CFU/g)	186.48ab	1.72c	1.77b	2.41a	8.20ab
5. Produit C (Log 6,2 CFU/g)	184.39ab	1.74bc	1.81ab	2.43a	11.40a
6. Produit D (Log 5,5 CFU/g)	182.91ab	1.76b	1.82ab	2.34bc	9.60ab

*IC ajusté selon la mortalité

CONCLUSION

Cette étude a démontré que l'ajout du produit B (Microsaf®) à l'alimentation des poulets à raison de Log 5,0 UFC/g d'aliments améliore significativement l'IC ajusté, par rapport au groupe témoin positif.

Cette amélioration au sein du groupe Microsaf® était numériquement meilleure que celle observée dans le groupe recevant le probiotique C et significativement supérieure à celle observée dans le groupe recevant le probiotique D.

Parmi tous les groupes challengés, les poulets du groupe Microsaf® ont été les seuls à présenter une consommation alimentaire significativement supérieure à celle du groupe témoin positif.

Southern Poultry Research Group
SPRG

Phileo by Lesaffre
phileo-lesaffre.com

METHODES D'APPLICATION DES VACCINS ANTICOCCIDIENS EN ELEVAGE BIOLOGIQUE DE POULETTES FUTURES PONDEUSES ŒUFS DE CONSOMMATION

Djabella Djouhra 1, Bertin Joel 1

1 COOPERATIVE LE GOUESSANT, 1 rue de la Jeannaie, 22402 LAMBALLE
Joel.bertin @legouessant.fr

RÉSUMÉ

L'utilisation croissante de la vaccination dans la lutte contre la coccidiose, nous a conduit à mener une étude comparative des différentes méthodes d'application de ces vaccins en élevage. L'objectif était de valider des méthodes pratiques et efficaces en alternative à l'administration par l'eau de boisson plus tardive parfois difficile à mettre en œuvre. Nous présentons les résultats des tests pour 2 modes d'administration, par pulvérisation sur les poussins ou sur pulvérisation sur l'aliment. Les travaux ont été réalisés sur 30 lots de poulettes futures pondeuses biologiques, représentant un effectif de 180 000 poulettes de différentes souches. En fonction de leurs disponibilités, nous avons utilisé les trois vaccins anticoccidiens autorisés en France (A,B,C). Nous avons vacciné 19 lots par le vaccin A, 10 lots par le vaccin B et un seul lot par le vaccin C. Pour la vaccination des poussins au sol, la solution vaccinale était pulvérisée une demi-heure à une heure après la mise en place lorsque les poulettes sont regroupées sur le papier. Pour l'aliment, la pulvérisation était effectuée dans l'heure qui précède l'arrivée des poussins. Nous avons estimé la prise vaccinale par le suivi du nombre d'oocystes par gramme de fiente (OPG), et par le suivi clinique et lésionnel des poulettes.

Pour 24 lots, quelle que soit la méthode de vaccination, nous avons enregistré à 21 jours des niveaux d'OPG indicatifs d'une bonne réplication vaccinale. Cela a été confirmé par des suivis cliniques et lésionnels.

Sous réserve d'une bonne préparation de l'aliment sur des papiers démarrage à dégradation lente, les deux méthodes ont permis d'obtenir des résultats similaires avec une bonne immunité confirmée par l'absence des signes cliniques. La facilité d'application sur l'aliment en production poulettes donne souvent la préférence à cette méthode pour les éleveurs.

ABSTRACT

The increasing use of vaccination in the fight against coccidiosis has led us to carry out a comparative study of the different methodes of application of vaccines in livestock. This study was carried out to validate a practical and effective method of vaccination, as an alternative to administering the vaccine in drinking water during the first week which is sometimes difficult to implement as was audited prior to this trial. We present the results of the tests of two modes of administration, by spraying on the chicks or on the feed, The work was carried out on 30 batches of future organic layer pullets, representing a total of 180,000 pullets of different strains. Depending on availability, we used the three coccidial vaccines authorized in France (A, B, C). We vaccinated 19 batches with vaccine A, 10 batches with vaccine B and only one batch with vaccine C.

For the vaccination of pullets on the ground, the vaccine solution was sprayed half an hour to one hour after placement when the pullets were grouped together on the paper. On the feed, the spraying was carried out in the hour preceding the arrival of the pullets. We estimated vaccine uptake by counting oocysts per gram of droppings (OPG), as well as clinical and lesion monitoring.

For both vaccination methods, we recorded significant OPG levels for the twenty-four batches at 21 days, which implies good replication of the vaccine confirmed by clinical and lesion monitoring.

Subject to good preparation of the food on starter papers with slow degradation, the two methods made it possible to obtain good immunity confirmed by the absence of clinical signs. For pullet breeders The ease of application on the feed often gives preference to this method.

INTRODUCTION

La coccidiose est causée par un parasite intestinal très contagieux qui peut provoquer de graves lésions chez la volaille. Cela cause des pertes économiques directes en élevage par mortalité, baisse de croissance et dégradation de l'indice de consommation. Plusieurs types de produits anti-coccidiens sont utilisés en curatif ou en préventif, à savoir les anticoccidiens dits « chimiques », les « ionophores » et les vaccins. En production biologique, en absence d'utilisation de substances allopathiques, le contrôle de la coccidiose est assuré pour tous les lots par la vaccination. Les vaccins sont administrés via différentes méthodes : pulvérisation à grosses gouttelettes sur l'aliment, sur les poussins à l'âge d'un jour au couvoir ou à la ferme ou par administration dans l'eau de boisson entre 4 et 9 jours. Afin de pallier aux difficultés observées pour cette dernière méthode et pour sécuriser l'application en élevage, nous avons testé deux méthodes d'application par pulvérisation sur l'aliment ou sur les poulettes à un jour d'âge.

1. MATERIELS ET METHODES

L'étude est réalisée au sein de 30 lots d'élevages biologiques de poulettes futures pondeuses d'œufs de consommation, répartis dans 21 bâtiments, sur un effectif de 180 000 poulettes de différentes souches.

En fonction des disponibilités, nous avons utilisé les trois vaccins autorisés en France contre la coccidiose (A, B, C). Ils contiennent au minimum les cinq espèces d'Eimeria. Nous avons vacciné 19 lots par le vaccin A, 10 lots par le vaccin B et un seul lot par le vaccin C. La solution vaccinale est préparée selon les instructions des différents fabricants.

Les vaccins sont appliqués à l'aide d'un pulvérisateur « Birchmeier » électrique avec une buse orange permettant d'obtenir des gouttelettes d'un diamètre moyen de 235 microns. La pression est réglée à 2 bars avec un débit de 0,97 litres/minutes.

Deux bandes de papier de démarrage type gaufré a dégradation lente sont placées de part et d'autre du bâtiment, tout le long des lignes des pipettes. Ce type de papier offre la consistance et la résistance nécessaires pour favoriser la rétention d'humidité ainsi qu'une durée de vie de 2 semaines qui permet d'accomplir les premiers cycles vaccinaux. Une quantité d'aliment consommé en 24H est distribuée uniquement sur le papier.

Pour la vaccination des poulettes au sol, la solution vaccinale est pulvérisée une demi-heure à une heure après la mise en place lorsque les poulettes se sont spontanément regroupées sur le papier. Sur l'aliment, la pulvérisation est effectuée dans l'heure qui précède l'arrivée des poulettes. La solution est pulvérisée uniformément sur toute la surface de l'aliment accessible aux poussins.

Nous avons estimé la prise vaccinale par :

- Par comptage des oocystes :

  Pour 14 lots par la cinétique d'excrétion des oocystes au cours des cinq premières semaines (J7, J14, J21, J28, J35 post vaccination).

  Pour les 16 autres lots restants par un seul prélèvement de fiente à J21.

- Le suivi clinique réalisé au moment des prélèvements des fientes
- Le suivi lésionnel réalisé en laboratoire sur 5 poulettes à 5 semaines d'âge (indices lésionnels de Johnson et Reid).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2-1- Suivi d'excrétion d'oocystes

Pour les vingt-quatre lots, en absence d'interférence avec d'autres infections à 21 jours, nous avons enregistré des niveaux des oocystes par gramme de fiente (OPG) significatifs pour les deux méthodes d'application sur les poussins ou sur l'aliment, résultat de la bonne réplication du vaccin confirmé par l'absence des signes cliniques. C'est notamment le cas pour les quatre lots en échec vaccinal identifiés par le suivi clinique. Dans ces cas, le comptage OPG correspond à la réplication des coccidies sauvages qui ont pris le dessus sur les coccidies vaccinales administrées à faible dose. Pour deux autres lots avec échec vaccinal, nous avons enregistré un faible niveau des OPG conséquence d'un défaut de recyclage des oocystes issus du premier cycle par manque de densité démarrage.

Pour les huit lots suivis avec des comptages d'oocystes réalisés sur les cinq semaines, la cinétique d'excrétion est similaire pour les deux modes applications sur les poussins ou sur l'aliment quel que soit le vaccin utilisé (Figure 1 et 2). les courbes prennent une forme en cloche avec un pic à l'âge de 3 semaines, résultat d'une bonne réplication des oocystes vaccinaux, puis une baisse de nombre d'oocyste conséquence de l'installation de l'immunité qui empêche la réplication des coccidies sauvages.

La mise en place de l'immunité nécessite au minimum 3 cycles de réplication des souches vaccinales. Le pic naturel maximal des oocystes pour les élevages commerciaux se produit généralement entre 3 et 5 semaines d'âge (Chapman et al., 2005). Il est donc nécessaire d'initier l'immunité le plus vite possible avant cette période à risque, d'où l'intérêt de vacciner au premier jour d'âge gagnant ainsi 4 à 9 jours sur l'application dans l'eau de boisson.

2-2- Suivi clinique

Aucun symptôme compatible avec la coccidiose n'a été observé, sauf pour six lots (trois bâtiments) faisant exception ou la maladie s'est exprimée en absence d'immunité protectrice.
Dans un cas ceci était lié au passage d'une maladie immunodépressive avec atrophie des bourses de Fabricius (Maladie de Gumboro ou Anémie infectieuse).

Dans un autre cas nous avons pu mettre en cause un manque de décontamination spécifique avec une pression d'oocystes sauvages trop importante au démarrage, ceux-ci ayant dépassé les premiers et seconds cycles vaccinaux.

Pour le dernier cas, la mauvaise prise vaccinale était liée à une trop faible densité des poussins après leur libération précoce sur l'ensemble de la surface du bâtiment. Les deuxièmes et troisièmes réplications vaccinales n'ont pas pu se dérouler de façon optimale.

2-3- Suivi lésionnel

Nous avons enregistré des lésions modérées dues à E. Tenella, E. maxima et E. acervulina, avec des scores lésionnels de l'ordre de 1 et 2 pour les vingt-quatre lots examinés. Ces scores, compatibles avec l'usage des souches vaccinales n'affectent pas les performances des poulettes immunisées.

CONCLUSION

Sous réserve d'une bonne préparation de l'aliment sur des papiers démarrage à dégradation lente, les deux méthodes de pulvérisation des vaccins anticoccidiens à la mise en place sur l'aliment ou sur les poussins ont permis d'obtenir des résultats identiques avec une bonne immunité confirmée par l'absence des signes cliniques.

L'étude a permis de valider, quel que soit le mode de vaccination, une méthode précoce pour contrôler la bonne réplication vaccinale par comptage des oocystes dans les fientes au 21ème jour post vaccination.

Chez les éleveurs de poulettes, la facilité d'application sur l'aliment avant l'arrivée des poussins donne souvent la préférence à cette méthode.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chapman, H.D.; Roberts, B.; Shirley, M.W., 2005. Guidelines for evaluating the efficacy and safety of live anticoccidial vaccines, and obtaining approval for their use in chickens and turkeys, Avian Pathology, 34, p.279-290

Figure 1 : Dynamique des réplications des oocystes post vaccination sur les poulettes

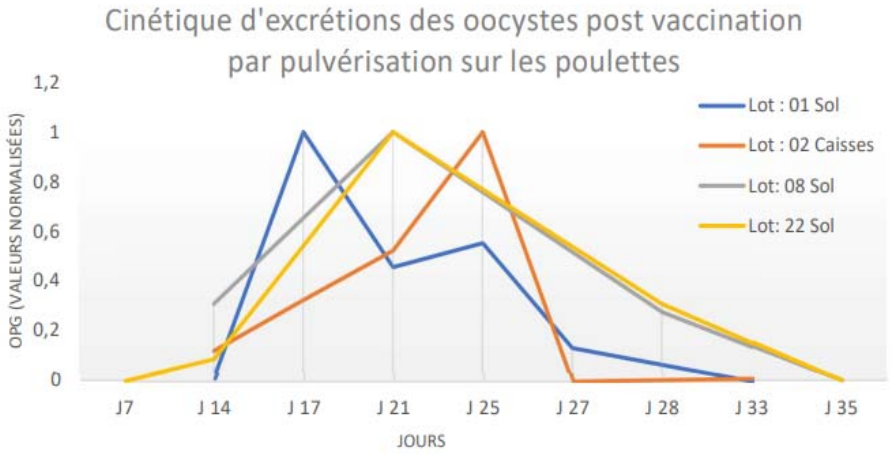
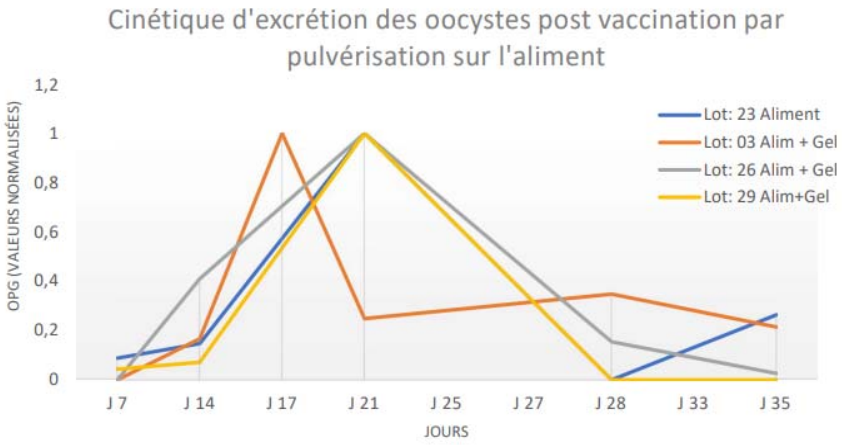


Figure 2 : Dynamique des réplications des oocystes post vaccination sur aliment



ETUDE DE L'IMPACT DE VACCINS ANTICOCCIDIENS SUR LES PERFORMANCES DES POULETS

Répérant Jean-Michel[1], Thomas-Hénaff Martine[1], Benoit Chantal[1], Raybaud Charlotte[2], Chachoua Yazid[3], Le Bihannic Pierre[1], Techer Clarisse[2]

[1]ANSES - 41 rue de Beaucemaine – 22440 PLOUFRAGAN,
[2]MIXSCIENCE - 2 avenue de Ker Lann - 35172 BRUZ,
[3]LABOFARM - 4 rue Théodore Botrel - 22603 LOUDÉAC
Jean-Michel.REPERANT@anses.fr

RÉSUMÉ

Parmi les moyens de contrôle des coccidies et coccidioses dans les élevages de poulets de chair, les additifs coccidiostatiques ou les vaccins anticoccidiens sont les approches les plus utilisées. Sur le terrain, des effets négatifs transitoires sur les paramètres zootechniques sont suspectés, et parfois constatés dans des essais en station expérimentale. Néanmoins, les conditions n'étant pas totalement maîtrisées, les effets observés ne peuvent pas être attribués aux vaccins avec certitude. Deux études ont été conduites avec les trois vaccins utilisables en poulets de chair, avec un suivi des performances et des critères parasitologiques. Dans chaque essai, cinq lots de 60 poulets ont été mis en place à un jour d'âge : trois lots recevant chacun un des trois vaccins pour poulets distribués par pulvérisation sur le duvet, un lot recevant un additif coccidiostatique dans l'aliment, et un lot témoin non vacciné recevant un aliment blanc. Tous les oiseaux ont été pesés à 10, 16 et 22 jours d'âge et les lésions de coccidiose ont été notées sur 20 sujets à chacun de ces âges. Les excrétions d'oocystes, mesurées régulièrement, ont permis de vérifier une bonne prise vaccinale et un bon recyclage des parasites. Les poids étaient significativement différents entre le lot témoin et les lots vaccinés à certaines dates de pesées, mais pas à toutes les dates et pas de façon semblable dans les lots vaccinés. Cette étude met en évidence un effet négatif transitoire sur le poids des oiseaux, mais peu important et peut-être estompé par une croissance compensatrice pendant la durée de l'élevage.

ABSTRACT
Study of the impact of anticoccidial vaccines on the performance of chickens
Among the methods to control coccidia and coccidiosis in broiler chickens, anticoccidial feed additives or anticoccidial vaccines are the most widely used approaches. In field conditions, transient negative effects on zootechnical parameters are suspected, and sometimes observed in trials in experimental facilities. However, as conditions are not fully under control, the observed effects cannot be definitely attributed to the vaccines. Two studies were conducted with the three vaccines that can be used in broilers, with performance monitoring and parasitological criteria. In each trial, five groups of 60 chickens were placed at one day of age: three groups each receiving one of the three chicken vaccines administered by spraying on the down, one group receiving an anticoccidial additive in the feed, and one unvaccinated control group receiving non supplemented feed. All birds were weighed at 10, 16 and 22 days of age and coccidiosis lesions were noted in 20 subjects at each of these ages. Oocyst excretion, measured regularly, allowed to verify a good vaccine intake and a good recycling of the parasites. The weights were significantly different between the control group and the vaccinated groups on some weighing dates, but not on all dates and not in a similar way in the vaccinated groups. This study highlights a transient negative effect on bird weight, but not very important and perhaps diminished by compensatory growth during the period of rearing.

INTRODUCTION

Les coccidies sont les parasites les plus fréquents en aviculture. Chez le poulet, elles se développent au niveau intestinal et/ou caecal, et en cas de fortes infections, elles peuvent entraîner une augmentation de l'indice de consommation, des retards de croissance, des signes cliniques dans les cas les plus graves, avec frilosité, diarrhées, et parfois de la mortalité avec certaines espèces (Silvestre et Répérant, 2019). Les moyens de contrôle de ces affections sont essentiellement basés sur les additifs coccidiostatiques et des vaccins anticoccidiens (Peek et Landman, 2011). Pour les productions de poulets de chair, trois vaccins sont autorisés en France, constitués de souches précoces à pathogénicité atténuée des principales espèces de coccidies rencontrées dans ce type de production, à savoir *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* et *Eimeria tenella*. Les trois vaccins contiennent également une souche atténuée d'*Eimeria mitis*, et un d'entre eux contient également une souche atténuée d'*Eimeria praecox*. Aucun de ces trois vaccins ne contient *Eimeria necatrix* ni *Eimeria brunetti*, les deux espèces les plus pathogènes chez *Gallus gallus*, mais rares et se manifestant généralement chez des animaux plus âgés. Des effets négatifs sur la croissance des poulets autour de 10 à 15 jours d'âge ont été rapportés sur le terrain lors de l'utilisation de ces vaccins, mais leur responsabilité n'est pas avérée, étant donné que de nombreux facteurs peuvent être responsables de ces observations. De même, lors d'essais en station expérimentale (résultats internes non publiés), ces phénomènes ont également été observés sur des lots vaccinés. Le but de notre travail a été de suivre et de comparer l'effet de ces trois vaccins sur les performances de poulets en conditions expérimentales contrôlées.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Validation de l'administration de vaccin

Un premier essai a été mis en place pour vérifier que l'administration d'un des vaccins permettait une infection avec excrétion d'oocystes et recyclage vaccinal.
50 poussins de souche Ross 308 ont été placés dans une caisse et la suspension vaccinale préparée selon les préconisations du fabricant avec le colorant associé a été pulvérisée sur le duvet des oiseaux. Les oiseaux ont été laissés 30 mn dans la caisse avant d'être installés dans une cage avec le sol grillagé recouvert de carton ondulé. Des fientes fraîches ont été collectées à 4, 7, 10, 14 et 16 jours d'âge, et 15 oiseaux ont été sacrifiés à 10 et 14 jours, les 20 sujets restants ont été sacrifiés à 16 jours d'âge. A chacune de ces dates, le tube digestif de poulets sacrifiés a été examiné pour recherche de lésions et de parasites.

1.2. Protocole pour chacun des deux essais consécutifs

Cinq lots de 60 poussins femelles de souche Ross 308 âgés d'un jour ont été constitués. Le lot 1 n'était pas vacciné et recevait un aliment témoin. Les lots 2 à 4 ont été vaccinés selon la même procédure que lors de l'essai de validation initial, avec les trois vaccins suivants : Paracox 5 pour le lot 2, Hipracox pour le lot 3 et Huveguard MMAT pour le lot 4. Le lot 5 n'était pas vacciné et recevait un aliment supplémenté avec un additif coccidiostatique contenant du narasin et de la nicarbazine.
Les animaux de chaque lot ont été placés dans une cage de 2 m^2 de surface, avec le sol recouvert de cartons ondulés, pour permettre le recyclage vaccinal dans les lots vaccinés, par ingestion des oocystes excrétés par les oiseaux.
L'excrétion d'oocystes a été suivie en prélevant des fientes fraîches à 4, 7, 10, 14, 16, 18, 20 et 22 jours d'âge.
Les poids individuels des sujets bagués à la mise en place ont été mesurés à 1, 7, 10, 14, 16, 18 et 22 jours d'âge et les gains de poids ont été calculés sur les périodes intermédiaires.
Des prélèvements de portions de jéjunum pour mesures histologiques ont été réalisés sur cinq poulets par lot à 10, 16 et 22 jours d'âge. Les hauteurs des villosités et profondeurs des cryptes ont été mesurées pour chaque échantillon.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Lors du premier essai de validation de l'administration du vaccin, des oocystes d'*E. acervulina* et d'*E. maxima* ont été détectés à 7 jours, et des oocystes d'*E. acervulina* et d'*E. tenella* ont été observés à 10 jours. La détermination des espèces a été faite sur des critères de taille et de forme des oocystes. L'examen des contenus digestifs a permis de mettre en évidence des oocystes d'*E. tenella* chez 12 des 15 oiseaux examinés à 10 jours, et des oocystes d'*E. maxima* et d'*E. mitis* chez un sujet pour chaque coccidie. A 14 jours, un seul sujet hébergeait des oocystes d'*E. maxima*, mais à 16 jours, des oocystes de trois espèces ont été observés sur trois sujets (une espèce par sujet). Ces résultats indiquent que l'administration s'est bien passée et que des coccidies se sont développées. La présence plus importante à 7 et 10 jours d'âge est liée aux cycles plus synchrones des coccidies juste après vaccination. Les cycles ayant des durées différentes en fonction des espèces de coccidies ont tendance à décaler la présence des oocystes dans les fientes et les tubes digestifs. C'est probablement la raison

pour laquelle peu d'oocystes ont été observés à 14 et 16 jours d'âge.

Lors du premier essai de comparaison des vaccins, des oocystes ont été détectés dès 4 jours dans les lots 2 et 3, et à partir de 7 jours dans le lot 4. Aucun oocyste n'a été vu dans les lots 1 et 5, à aucune des dates d'analyses.
De 7 à 18 jours, tous les prélèvements de fientes des lots 2 à 4 étaient positifs, avec des concentrations parfois élevées, atteignant plus de 100.000 oocystes par gramme de matières fécales dans quatre prélèvements. A 22 jours, aucun oocyste n'a été trouvé dans les fientes des oiseaux du lot 2, alors que les lots 3 et 4 étaient toujours positifs.
En classant les oocystes observés sur les critères de taille et de forme, les trois types morphologiques correspondant à *E. acervulina* (petits et ovoïdes), *E. tenella* (moyens et ovales) et *E. maxima* (grands et ovoïdes) ont été observés, avec cependant une occurrence très faible pour *E. maxima* dans le lot 2 (une seule observation à 7 jours).
Des poussins femelles ont été choisis pour avoir une meilleure homogénéité de croissance, les femelles grossissant moins rapidement que les mâles. Les poids initiaux des poussins correspondaient à la norme pour cette souche : 42 grammes.
A 7, 10, 14 et 16 jours d'âge, aucune différence significative de poids n'est apparue entre le lot témoin et les lots 2 à 5. Toutefois, à 7 et 10 jours, les oiseaux des lots 2 et 3 avaient un poids moyen significativement différent de celui du lot 5. A 18 et 22 jours, des différences significatives ont été mises en évidence entre les lots, notamment dans le lot 3 par rapport au lot 1. Les résultats dans le lot 5 étaient également plus faibles que dans le lot 1, sans qu'une explication logique ne puisse être apportée.
En calculant les gains de poids intermédiaires entre les différentes dates de pesées (tableau 1), des différences apparaissent entre le lot 1 et les lots 3 et 4 sur la période 10-14 jours d'âge, et sur les périodes 16-18 et 18-22 jours d'âge.
Les observations des tubes digestifs à 10, 16 et 22 jours ont permis d'observer quelques sujets avec des lésions d'indice 1 selon l'échelle de notation de Johnson et Reid (1970) : deux oiseaux à 10 jours dans le lot 3, neuf oiseaux à 16 jours dans le lot 4 et un oiseau à 22 jours dans le lot 4.

Pour le deuxième essai de comparaison des vaccins, le même schéma a été utilisé, mais la disposition des lots dans les cages a été changée, afin de pallier à un éventuel effet de la position des lots dans la salle. Dans le premier essai, le lot 5 était placé au dessus du lot 4, ce qui aurait pu poser un problème si de l'aliment supplémenté était tombé dans la cage du lot 4 et si les oiseaux l'avaient ingéré. Ce cas de figure ne s'est apparemment pas produit car les excrétions et les lésions étaient les plus marquées dans le lot 4. Néanmoins, dans le deuxième essai, le lot 5 a été placé sous le lot 1, pour éviter tout risque d'ingestion d'aliment supplémenté par les oiseaux des autres lots.
Des oocystes ont été détectés dès 4 jours dans les trois lots vaccinés, et la présence d'oocystes a duré jusqu'à la fin de l'essai à toutes les dates de suivi, sauf dans le lot 2 où aucun oocyste n'a été décelé à 10 et 22 jours. Néanmoins, des oocystes étant observés aux dates suivant le 10ème jour, le recyclage a bien eu lieu dans ce lot. L'excrétion était globalement plus faible dans ce lot, comme lors du premier essai.
A 7, 10 et 22 jours, aucune différence significative de poids n'a été constatée entre les cinq lots. A 14, 16 et 18 jours, les oiseaux du lot 4 étaient significativement inférieurs à ceux du lot 1. Les lots 2 et 3 n'étaient, eux pas significativement différents du lot 1, mais significativement inférieurs au lot 5 à 18 jours, et le lot 3 était différent du lot 5 également à 14 jours.
En calculant les gains de poids intermédiaires (tableau 2), des différences sont significatives, sur les périodes 7-10 jours, 10-14 jours et 16-18 jours, notamment avec le lot 5.
L'examen des tubes digestifs n'a permis de mettre en évidence de lésions causées par des coccidies dans aucun des lots.

Dans les deux essais, l'effet négatif des vaccins sur le poids et le gain de poids semble donc intervenir sur les périodes entre 10 et 14 jours et entre 16 et 18 jours d'âge. Cependant, dans le premier essai, cet effet est présent sur la période 18-22 jours dans les lots 3 et 4, alors qu'il ne l'est pas dans le deuxième essai, et une différence significative est observée entre ces lots et le lot 1 dans le premier essai sur la durée totale de l'essai (0 à 22 jours) alors qu'il n'y en a pas entre les lots dans le deuxième essai. Le vaccin du lot 2 semble avoir le moins d'impact sur les performances.

Les mesures sur les prélèvements histologiques n'ont pas permis de voir de différences significatives sur la longueur des villosités entre les groupes, mais une différence selon l'âge des poulets, les villosités étant plus longues à 22 jours. La profondeur des cryptes était plus importante pour les oiseaux de deux des lots vaccinés, et à 22 jours d'âge.

CONCLUSION

Ces deux essais réalisés dans des conditions similaires avec les trois vaccins utilisables en poulets de chair, ont montré qu'il existe un effet négatif sur les performances des poulets, qui semble correspondre aux deuxième et troisième cycles des

coccidies vaccinales. Cependant, ces effets, même s'ils sont significatifs à certains intervalles de temps et peuvent avoir des conséquences dans les élevages utilisant ces vaccins, ne sont pas très importants et les performances peuvent s'équilibrer au cours du temps, comme cela a été observé dans le deuxième essai à 22 jours. L'impact semble différent selon le vaccin utilisé, suggérant que le vaccin du lot 4 a le plus fort impact sur la croissance des poulets.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Silvestre A., Répérant J.-M., 2019, Proceedings des 13èmes JRA-JPFG, 234-241
Peek H.W., Landman W.J.M., 2011, Vet Q, (31), 143-161
Johnson J., Reid M.W, 1970, Exp. Parasitol., (28), 30-36

Tableau 1. Gain de poids lors du premier essai. Les gains de poids sont exprimés en grammes. Les lettres différentes indiquent des différences significatives.

Période (jours)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
0-7	117,5^{ab}	108,5^{b}	112,1^{ab}	117,2^{ab}	121,4^{a}
7-10	67,2^{b}	65,8^{b}	66,0^{b}	73,6^{a}	70,5^{ab}
10-14	151,7^{a}	152,9^{a}	138,5^{b}	139,6^{b}	141,9^{b}
14-16	105,3^{bc}	96,1^{c}	98,8^{c}	104,9^{ab}	108,9^{a}
16-18	118,1^{a}	111,2^{a}	89,4^{bc}	96,6^{b}	81,8^{c}
18-22	274,3^{a}	261,4^{a}	235,7^{b}	241,4^{b}	227,8^{b}
Global 0-22	**843**^{a}	**803**^{ab}	**747**^{c}	**775**^{bc}	**753**^{c}

Tableau 2. Gain de poids lors du deuxième essai. Les gains de poids sont exprimés en grammes. Les lettres différentes indiquent des différences significatives.

Période (jours)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
0-7	116,0^{a}	115,3^{a}	121,3^{a}	114,7^{a}	118,9^{a}
7-10	74,4^{abc}	78,1^{ab}	73,3^{bc}	71,5^{c}	78,5^{a}
10-14	158,9^{ab}	150,2^{bc}	144,6^{c}	134,0^{d}	161,7^{a}
14-16	103,4^{a}	107,6^{a}	106,0^{a}	103,2^{a}	100,5^{a}
16-18	107,2^{a}	83,1^{c}	90,4^{bc}	94,3^{b}	109,2^{a}
18-22	238,4^{a}	248,3^{a}	247,2^{a}	249,8^{a}	244,3^{a}
Global 0-22	**811**^{a}	**798**^{a}	**791**^{a}	**775**^{a}	**826**^{a}

STRATEGIE DE CONTROLE DE LA COCCIDIOSE : EVALUATION SANITAIRE ET ZOOTECHNIQUE EN CONDITION EXPERIMENTALE SUR UNE SOUCHE DE POULET A CROISSANCE LENTE

Anne Christine Dufay-Lefort[1], Angélique Travel[1], Christophe Souchet[1], Fabien Skiba[2], Jean Michel Répérant[c]

[1]ITAVI, 7 rue Faubourg Poissonniere, 75009 PARIS
[2]NUTRICIA, 1 rte de Saint Sever, 40280 HAUT MAUCO
[3]ANSES, 41 rue de Beaucemaine, 22440 PLOUFRAGAN

lefort@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

La coccidiose impacte la santé et le bien-être des volailles et induit des conséquences économiques et environnementales importantes. Plusieurs solutions pour contrôler la coccidiose sont disponibles sur le marché. Afin d'évaluer l'efficacité de ces approches, une étude expérimentale a été réalisée sur 1200 poulets certifiés élevés au sol. Trois traitements ont été testés via 6 répétitions de 40 poulets : 1. vaccin anticoccidien administré au couvoir, 2. additif à base de plantes dans l'aliment (0-49 jours), 3. programme contenant des coccidiostatiques ionophores et chimiques dans l'aliment (coccidiostatique A distribué de 0 à 27j et le B distribué de 28 à 49j). Des lots témoins (non inoculés/ sans stratégie de contrôle et inoculés/ sans stratégie de contrôle) ont servi de référentiel. Les poulets ont été inoculés à 21j en gavage individuel (*E. acervulina* et *tenella*). Le programme coccidiostatique a permis d'obtenir une réduction des lésions de coccidioses significativement plus importantes que les deux autres solutions. Dans nos conditions d'essai, l'additif à base de plantes n'a pas limité les lésions intestinales de coccidiose alors que le vaccin a permis une protection intermédiaire. Concernant les indicateurs zootechniques, le programme coccidiostatique a permis également d'obtenir de meilleurs résultats sur le poids vif à 49j, le GMQ, l'IC, le poids carcasse et le rendement des filets alors que les autres solutions ne démontrent pas de différence significative en comparaison avec le lot inoculé/non traité. Dans les conditions de cet essai, les coccidiostatiques ont démontré, sur des poulets à croissance lente et avec des coccidies sensibles à ces molécules, une meilleure efficacité sur la gestion de la coccidiose.

ABSTRACT

Coccidiosis control strategy : health and zootechnical evaluation under experimental conditions on low-growth broiler strain.

Coccidiosis affects the health and welfare of poultry and has important economic and environmental consequences. Several solutions to control coccidiosis are available on the market. To evaluate the efficacy of these approaches, an experimental study was carried out on 1200 slow growing chickens. Three treatments were tested via 6 replicates of 40 chickens: **1**. anti-coccidial vaccine administered at the hatchery, **2**. herbal additive in the feed (0-49 days), **3**. ionophore and chemical coccidiostats in the feed (coccidiostat A distributed from 0 to 27 days and B distributed from 28 to 49 days). Control groups (uninoculated/no control strategy and inoculated/no control strategy) were used as a reference. Chickens were inoculated at 21 days in individual gavage (*E. acervulina* and *tenella*). The coccidiostatic program resulted in a significantly greater reduction in coccidiosis lesions than the two other solutions. Under our test conditions, the herbal additive did not limit intestinal coccidiosis lesions, whereas the vaccine provided intermediate protection. Regarding the zootechnical indicators, the coccidiostat program also provided better results on live weight at 49 days, daily weight gain, feed conversion, carcass weight and breast yield while the other solutions did not show any significant difference compared to the inoculated/untreated lot. Under the conditions of this trial, the coccidiostats showed better efficacy in managing coccidiosis in slow-growing chickens with coccidia sensitive to these molecules.

INTRODUCTION

Les coccidies sont des parasites unicellulaires présents dans 100% des élevages de volailles, y compris en production plein air. Ces parasites peuvent être à l'origine de maladies digestives : les coccidioses. Les lésions engendrées par ces maladies sur les cellules intestinales sont à l'origine d'une perte d'intégrité intestinale, c'est à dire d'une diminution de la capacité de l'intestin à réaliser ses fonctions de digestion, de transformation et d'assimilation. Les conséquences de cette détérioration sont multiples et s'opposent au souhait de la filière avicole de s'inscrire dans une démarche de développement durable. Les coccidioses ont en premier lieu un impact économique, puisque les formes subcliniques, les plus fréquentes, entraînent une augmentation de l'indice de consommation (IC) et des retards de croissance chez les animaux (Bostvironnois et al., 2010). Les coccidioses impactent également la santé et le bien-être des poulets : le développement des parasites peut entraîner, par réaction de défense du tube digestif, une surproduction de mucus favorable au développement de *Clostridium perfringens* à l'origine d'entérites bactériennes (Baba et al., 1997). La dégradation de la litière associée à ces entérites, augmente le risque de pododermatites et d'ampoules de bréchet (Bostvironnois et al., 2009 ; Clave et al., 2004). De plus, l'affaiblissement de l'état général des poulets lors d'une coccidiose (forme clinique) peut entraîner des complications secondaires propices au développement de maladies bactériennes digestives nécessitant un recours aux antibiotiques (Parker et al., 2021). Certaines de ces maladies bactériennes peuvent entraîner des conséquences négatives sur la sécurité sanitaire des produits, en augmentant le risque de toxi-infections alimentaires liées à la transmission d'agents co-infectieux comme des salmonelles ou des campylobacter (MacDonald et al., 2019 ; Volkova et al., 2013). Des estimations récentes font état d'un coût mondial évalué à 12,17 milliards d'euros pour l'année 2016, attribué aux seules coccidioses (Blake et al, 2020). Enfin, les coccidioses ont un impact environnemental car l'altération du fonctionnement digestif des poulets génère une moindre absorption des nutriments et donc plus de rejets.

Un contrôle efficace de ces maladies reste donc primordial pour permettre à la filière avicole de s'inscrire dans une démarche durable.

Afin de comparer les différentes solutions de contrôle de la coccidiose existant sur le marché, l'étude suivante a été menée sur des poulets à croissance lente élevés en bâtiment conventionnel expérimental.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Les conditions expérimentales

L'étude s'est déroulée en station expérimentale (Nutricia) sur la période de mai à juillet 2019. Elle a porté sur 1200 poulets JA757 élevés en bâtiment statique avec sol bétonné équipé de 30 parquets individuels. La période d'élevage était de 49 jours. Une désinfection renforcée incluant un détergent et un produit à revendication oocysticide a été utilisée pour réduire le mieux possible la présence d'oocystes de coccidies dans l'environnement avant le démarrage de l'essai. Les poussins ont été livrés sexés et provenaient d'un seul parquet de reproducteurs. Ils ont été répartis par parquet de 40 sujets (20 mâles et 20 femelles) en respectant une densité de 16,3/m². Chaque parquet contenait une litière de copeaux et était équipé d'un nourrisseur et d'un abreuvoir de type cloche. Les poussins ont tous été bagués à 11 jours d'âge.

Le programme alimentaire était composé de 4 phases :

- Un aliment démarrage en miettes (0 à 10 j)
- Un aliment croissance en miettes (11 à 27 j)
- Un aliment finition en miettes (28 à 38 j)
- Un aliment retrait en granulés (39 à 47 j)

La totalité du programme alimentaire était supplémentée en pigment pour permettre la coloration de la peau des poulets. La mise en chauffe du bâtiment a été réalisée 72 heures avant l'arrivée des poussins et les consignes de températures ont été respectées conformément aux recommandations du fournisseur de la souche JA757. L'eau de boisson était traitée en continu avec un acidifiant et le pH a été contrôlé au démarrage de l'essai en bout de ligne. Un réhydratant a été ajouté à l'arrivée des poussins.

Le programme lumineux intégrait une coupure de lumière, stable à minimum de 6 heures d'obscurité à partir de 6 jours d'âge.

1.2. Les approches testées pour contrôler les coccidies :

Trois approches pour contrôler les coccidies ont été comparées dans cet essai :

- Un vaccin anticoccidien contenant 5 souches de coccidies différentes de 4 espèces d'*Eimeria* induisant une immunisation active des poulets pour réduire l'infection et les signes cliniques de coccidioses dues à *Eimeria acervulina*, *E. maxima, E. mitis* et *E. tenella.*

  La vaccination a été réalisée au couvoir.
- Un prémélange d'additif à base de plantes (= PM à base de plantes), distribué dans l'aliment de 0 à 49 jours.
- Des additifs coccidiostatiques, combinaison d'un ionophore et d'une molécule chimique : narasin 50 ppm + nicarbazine 50 ppm distribué de 0 à 28 jours d'âge puis narasin 70 ppm distribué de 29 jours à l'abattage (49 jours).

Pour chaque stratégie de contrôle, 6 répétitions de 40 poulets ont été élevés (240 poulets au total / stratégie).

Deux groupes témoins de 240 poulets ont également été inclus dans le suivi, soit un groupe inoculé / sans stratégie de contrôle des coccidies (nommé I/NT – T^+) et un autre groupe non inoculé / sans stratégie de contrôle des coccidies nommé NI/NT – T^-). Au total, 5 groupes de 240 poulets (1 groupe par stratégie testée et 2 groupes témoins ont été suivis durant l'essai)
Les aliments fabriqués pour l'essai (supplémentés en additifs coccidiostatiques, le prémélange à base de plantes, aliment blanc pour le groupe vacciné et les deux groupes témoins) ont été formulés sur la base des recommandations du sélectionneur et de manière identique pour l'ensemble des groupes. La conformité des aliments pour les nutriments principaux a été validée grâce à des analyses par spectroscopie proche infrarouge et une évaluation de la matière azotée totale. De même, les doses de coccidiostatiques ont été vérifiées dans les aliments supplémentés, l'absence de traces de coccidiostatiques dans les autres aliments a été contrôlée.

1.3. Le modèle infectieux d'épreuve

Le modèle infectieux retenu permet d'induire des signes cliniques de coccidioses (diarrhées, frilosité et prostration) mais aussi des lésions sur les différentes portions de l'intestin qui soient bien marquées.
L'inoculum contenait deux espèces : *E. acervulina* et *E. tenella.* L'inoculum a été fourni par l'unité VIPAC de l'ANSES à partir de sa souchothèque.
Neuf cent soixante poulets ont été inoculés individuellement avec 100.000 oocystes sporulés d'*E. acervulina* et 10.000 oocystes sporulés d'*Eimeria tenella*. Les 240 poulets du groupe « non inoculé, sans stratégie de contrôle » ont reçu de l'eau + du bichromate de potassium pour mimer la même manipulation que dans les autres groupes. L'inoculation a eu lieu à l'âge de 21 jours par gavage œsophagien de 1 ml / poulet.
Afin de s'assurer, lors de l'inoculation, que les poulets n'avaient pas été exposés préalablement à des coccidies sauvages, des prélèvements à 13 et 19 jours d'âge ont été réalisés. De 20 à 30 fientes intestinales et au moins 2 vidanges caecales ont été prélevées sur le lot vacciné et l'un des deux lots témoins. Les prélèvements, recouverts d'une solution de bichromate de potassium à 2%, ont été envoyés à l'unité VIPAC ANSES de Ploufragan sous couvert du froid (+4°C) pour comptage des oocystes et identification.

1.4. Les paramètres enregistrés

Des paramètres zootechniques et sanitaires ont été mesurés durant toute la durée de l'essai pour les 5 groupes de 240 poulets :



Figure 1 : Paramètres enregistrés durant l'essai

Les lésions de coccidioses ont été évaluées à J27 selon le référentiel de Johnson et Reid (1970).

1.5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Statview®, version 5 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Les effets du vaccin et du prémélange à base de plantes ont été comparés séparément au groupe coccidiostatiques et aux 2 groupes témoins. Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes. Les scores lésionnels ont été analysés au moyen de tests de Chi2, avec un degré de signification fixé à 5%. La croissance, la consommation alimentaire et les performances d'abattage ont été analysées au moyen d'analyse de variance pour détecter les différences significatives entre les groupes (Anova, suivie du test de comparaison multiple des moyennes de Newman et Keuls avec un seuil α fixé à 5%).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les contrôles effectués à 13 et 19 jours d'âge ont permis de valider l'absence de coccidies sauvages à ces âges. De même, l'évaluation des indices lésionnels moyens sur les deux groupes témoins, permettent de confirmer que le modèle infectieux a bien fonctionné (différences significatives avec $P<0,001$ pour *E. acervulina* et *E. tenella*). En comparaison avec le lot témoin positif, dans nos conditions, le programme coccidiostatique a montré, 6 jours après inoculation, une très bonne protection des intestins contre les lésions causées par les coccidies (score lésionnel de 0), aucune lésion n'étant observée sur l'ensemble des animaux pour les deux coccidies (figure 2). Dans le cadre de cet essai, la solution à base de plantes n'a pas permis de limiter les lésions intestinales, les scores lésionnels ne montrant pas de différence significative en comparaison du lot témoin positif (I/NT-T^+) ; les indices lésionnels étant supérieurs à 2 pour les deux espèces de coccidies. Quant au vaccin, il a apporté une protection intermédiaire entre le témoin négatif (NI/NT-T^-) et le programme coccidiostatique (score lésionnel de 1,5 pour *E. acervulina* et 0,4 pour *E. tenella*). Pour les autres indicateurs mesurés (pododermatites et qualité de litière, notations lésionnelles digestives hors indices lésionnels de coccidioses, saisies et qualité

d'éviscération), il n'a pas été démontré de différences significatives. A noter qu'il n'y a eu aucune mortalité anormale pour l'ensemble des lots, au cours de l'essai. Au démarrage de l'essai, le poids vif des poussins était équivalent entre les différents groupes.
Dans cet essai, le groupe avec le programme coccidiostatique a significativement amélioré les performances zootechniques : sur les poids individuels à J28, J39 et J48, sur le gain de poids entre J12 et J48, et sur l'indice de consommation global évalué entre J0 et J48 (figure 3). Les deux autres solutions ne se sont pas démarquées du témoin positif de manière significative sur ces critères. Le meilleur rendement en filet a été observé dans le groupe sous coccidiostatiques, les deux autres groupes « vaccin » et « prémélange à base de plantes » ne montrant pas de différence significative au regard du témoin positif (figure 3). Concernant les mesures de couleur, la peau des poulets était significativement plus jaune dans le groupe sous coccidiostatiques en comparaison du groupe prémélange à base de plantes (index de coloration = 28,5 *vs* 22,6 - $p<0,0001$), ce résultat n'étant pas observé dans le cas de la comparaison avec le vaccin (pas de différence significative vaccin *vs* coccidiostatiques sur ce paramètre).
Les meilleurs résultats zootechniques obtenus avec le programme coccidiostatique peuvent s'expliquer par l'absence de lésions intestinales suite à l'infection d'épreuve à 21 jours, à la différence des autres solutions. Ceci s'explique par le fait que l'inoculum de coccidies, utilisé pour l'infection d'épreuve à 21 jours, était sensible aux additifs coccidiostatiques utilisés. Les résultats auraient peut-être été différents avec un isolat résistant, comme l'ont montré des travaux de Peek et Landman (2003).
Le programme coccidiostatique évite la multiplication des coccidies dans les cellules épithéliales évitant ainsi leur destruction. L'intégrité digestive est préservée ce qui permet en partie d'expliquer les meilleures performances observées pour ce groupe.
Une étude réalisée en 2004 par Clave et al., selon un design assez proche sur des poulets label, arrivait aux mêmes conclusions. A noter toutefois, que pour Clave et al., l'infection d'épreuve était beaucoup trop proche de la vaccination pour permettre la mise en place correcte de l'immunité protectrice telle que préconisée par les fournisseurs du vaccin.

CONCLUSION

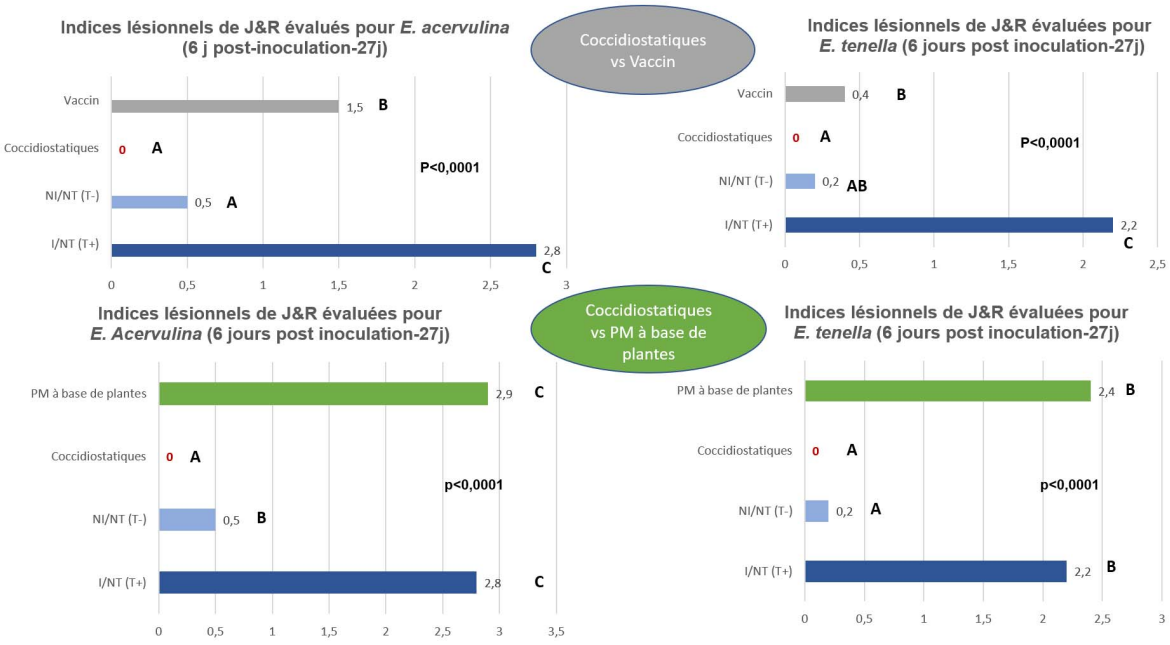
Dans le contexte de notre étude, avec des coccidies sensibles, le programme coccidiostatique testé ici a été la solution la plus efficace pour contrôler la coccidiose et préserver l'intégrité intestinale. Cette protection de l'intestin a conduit à un indice de consommation et une croissance améliorés.

Dans le cadre de cette étude et afin de valider ces observations sur l'ensemble des espèces de coccidies, il aurait été intéressant de comparer ces trois stratégies de la gestion de la coccidiose sur l'espèce *E. maxima*, espèce rencontrée de plus en plus fréquemment en poulets de chair. Il serait également nécessaire de répéter ce type d'études avec des isolats de coccidies prélevés récemment sur le terrain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

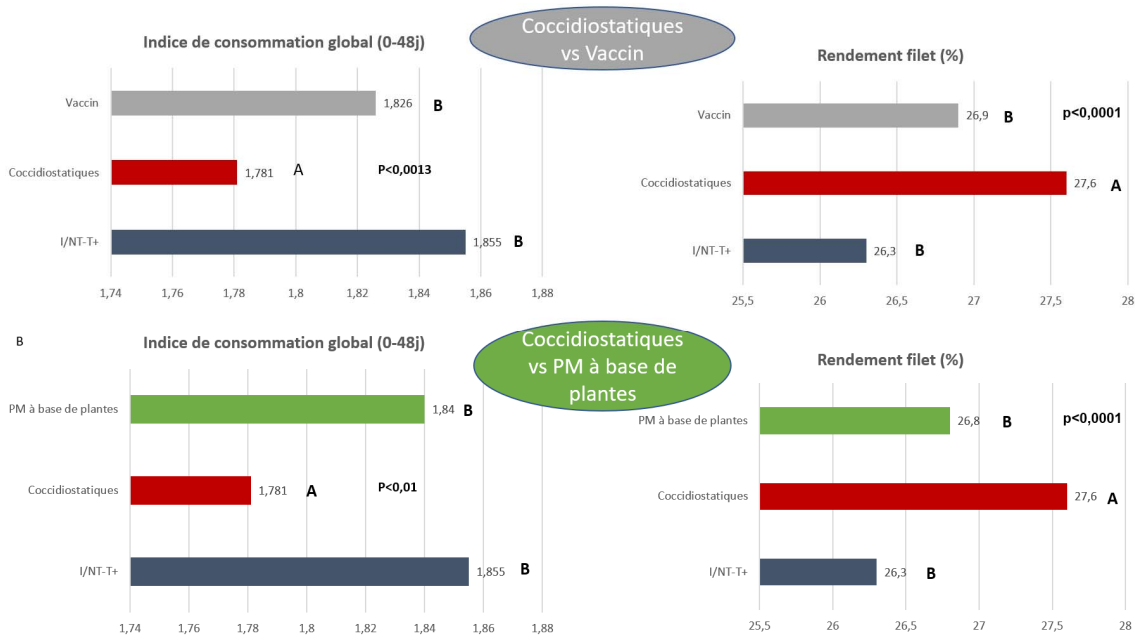
Baba E, Ikemotoa T, Fukata T, Sasai K, Arakawa A, McDougald LR, 1997, Vet Microb.;54:301–8.
Blake DP, Knox J, Dehaeck B, Huntington B, Rathinam T, Ravipati V, et al. Vet Res. 2020;51(1):115.
Bostvironnois C. et al –2010 ; XIIIth European Poultry Conference – Tours, poster
Bostvironnois, C., Zadjian, C. and Corniaux, A, 2009; Poster 17th ESPN, Edinburgh.
Clave H, Van Der Horst F, 2004 ; Sci Tech Avicoles, 1-4.
Johnson J. et Reid M. W., 1970; Exper. Parasit. 28, 30-36.
Macdonald SE, van Diemen PM, Martineau H, Stevens MP, Tomley FM, Infect Immun. 2019;87:1–12.
Parker CD, Lister SA, Gittins J ; 2021 ;Vet Rec.1-7, e513, https://doi.org/10.1002/vetr.513
Peek H.W, Landman W.M., 2003; Avian. Pathol., 32: 391-401
Volkova VV, Hubbard SA, Magee DL, Byrd JA, Bailey RH, Wills RW. Avian Dis. 2013;57(3):640–644.

Figure 2. Résultats comparatifs sur le contrôle des lésions de coccidioses (*E. acervulina* et *E. tenella*)



Les valeurs présentant des lettres différentes (A, B, C) indiquent que les résultats sont statistiquement différents.
I / NT (T+) = Témoin positif - inoculé mais sans stratégie de contrôle
NI/NT (T-) = Témoin négatif - non inoculé et sans stratégie de contrôle

Figure 3. Résultats comparatifs sur les indicateurs zootechniques



Les valeurs présentant des lettres différentes (A, B) indiquent que les résultats sont statistiquement différents.
I / NT (T+) = Témoin positif - inoculé mais sans stratégie de contrôle

INTÉRÊT DE SUBSTANCES AROMATIQUES CHEZ LE POULET DE CHAIR ALIMENTÉ SANS ANTICCOCIDIEN OU VACCINÉ CONTRE LA COCCIDIOSE

Canin Amandine, Mahieu Anne, Desbordes Pierre, Greuter Amaury, Domitile Renaud
[1]*IDENA – 21 Rue du Moulin -44880 SAUTRON,*
amandine.canin@idena.fr

RÉSUMÉ
La coccidiose est une maladie provoquée par des protozoaires du genre Eimeria qui colonisent les cellules intestinales et se développent avant d'être excrétés dans le milieu extérieur. Les volailles se contaminent en ingérant les oocystes sporulés dans le sol. L'introduction de molécules anticoccidiennes dans l'aliment est la solution la plus utilisée pour limiter l'infection. La vaccination des poussins est une deuxième solution. Des extraits végétaux peuvent être utilisés comme alternative ou en complément. L'objectif de cet essai est de comparer les performances de poulets de chair recevant une ou plusieurs de ces trois solutions. 1 600 poulets de chair (Ross 308) sont séparés en 5 groupes (8 parcs de 40 poulets par groupe) et reçoivent le même programme alimentaire de 0 à 35 jours. G1 est vacciné contre la coccidiose (5 souches vivantes atténuées). G2 est supplémenté dans l'aliment avec deux anticoccidiens (0-21j=narasin 45 ppm+nicarbazine 45 ppm, puis 22-35j=narasin à 70 ppm). G3 et G4 sont supplémentés avec des substances aromatiques dont des extraits de plantes ayant montré des effets sur le cycle d'Eimeria *in vitro* (AL898 à 0,1% dans l'aliment de 0 à 35 jours). G4 reçoit, en complément, un second mélange de substances aromatiques ayant montré des effets contre *C. perfringens in vitro* (AL709 à 0,1% dans l'aliment de 0 à 35 jours). G5 est vacciné contre la coccidiose et reçoit le second mélange de substances aromatiques (AL709 à 0,1% dans l'aliment de 0 à 35 jours). A 10, 21, 28 et 35 jours, le poids vifs moyen et l'indice de consommation sont calculés par parc. Les résultats sont analysés par une ANOVA. Des scores lésionnels sont réalisés à 28 jours. A 35 jours, il n'y a pas de différences significative sur les poids vifs mais on observe numériquement des poids supérieurs pour G2 et G4, intermédiaires pour G5 et G3, et plus faibles pour G1 (G1=2072g, G2=2120g, G3=2090g, G4=2113g, G5=2095g – N.S.). L'indice de consommation de G2 (narasin et nicarbazin) est significativement amélioré en comparaison de G1 (vaccin). Les 3 autres groupes obtiennent des indices intermédiaires (G1=1,539, G2=1,512, G3=1,530, G4=1,524, G5=1,528 – p-value=0,048). Les scores lésionnels à 28 jours sont <2 pour l'ensemble des groupes. Ces résultats montrent l'efficacité des anticoccidiens par rapport à la vaccination coccidiose sur les performances et suggèrent l'intérêt de substances aromatiques en l'absence d'anticoccidiens dans l'aliment ou chez des poulets vaccinés contre la coccidiose.

ABSTRACT
Interest of flavouring coumpounds in broiler chickens fed without coccidiostatic molecules or vaccinated against coccidiosis
Coccidiosis is a disease resulting from the development and multiplication of protozoa genus Eimeria in the avian gut epithelium, before excretion in the external environment. Poultry birds get contaminated by ingesting sporulated parasites on the ground. Adding anti-coccidial in the feed is the most frequently used solution to limit infection. Chicks vaccination against coccidiosis is a second option. Botanical extracts can be used as an alternative or in addition to the previous solutions. The objective of this experiment is to compare the performance of broilers receiving one or several of these 3 solutions. 1 600 broilers (Ross 308) are split in 5 treatments (8 pens of 40 broilers per treatment) and fed similarly from 0 to 35 days of age. G1 is vaccinated against coccidiosis (5 attenuated live strains). G2 is supplemented via feed with 2 anti-coccidials (0-21d=45 ppm of narasin +45 ppm of nicarbazine, then 22-35d=70 ppm of narasin). G3 and G4 are supplemented with an association of flavouring compounds including plant extracts which have shown, *in vitro*, effects on the Eimeria cycle (AL898 at 0.1% in the feed from 0 to 35 days of age). G4 is fed, in addition, with a second blend of flavouring compounds which have shown, *in vitro*, effects on *C. perfringens* (AL709 at 0.1% in the feed from 0 to 35 days of age). G5 is vaccinated against coccidiosis and is fed the second blend of flavouring compounds (AL709 at 0.1% in the feed from 0 to 35 days of age). At 10, 21, 28 and 35 days, average live weight and feed conversion ratio are determined per pen. Results are analyzed with ANOVA. Lesion scores are conducted at 28 days. At 35 days, G2 and G4 show numerically the highest live weights, G5 and G3 show intermediate ones, and G1 the lowest one (G1=2072g, G2=2120g, G3=2090g, G4=2113g, G5=2095g – N.S.). G2 feed conversion ratio (narasin-nicarbazine) is significantly lower than G1's (vaccination only). The other 3 treatments get intermediate ratios (G1=1,539, G2=1,512, G3=1,530, G4=1,524, G5=1,528 – p-value=0.048). Lesion scores at 28 days are below 2 for all treatments. These results show an advantage of anti-coccidials compared to coccidiosis vaccination on performances and suggest the interest of aromatic substances when no anti-coccidials are fed or for broilers vaccinated against coccidiosis.

INTRODUCTION

Chez les volailles, la coccidiose est une maladie enzootique, provoquée par le développement et la multiplication d'espèces de protozoaires du genre *Eimeria* (Crevieu-Gabriel et Naciri, 2001). Le parasite est présent quels que soient le système de production et les conditions environnementales. L'infection provoque une destruction des cellules de la muqueuse intestinale et peut induire, selon les espèces d'*Eimeria*, une réduction de la croissance et de l'efficacité alimentaire (infection sub-cliniques), ou une soudaine et forte mortalité.

L'introduction de molécules anticoccidiennes ionophores ou de synthèse dans l'aliment a permis de limiter considérablement les conséquences des infections. L'utilisation, dans les aliments pour volailles, de ces molécules classées comme « additifs alimentaires » par le Règlement (CE) n°1831/2003 n'est pour le moment pas remis en cause. Toutefois, il existe des débats et prises de position sur leur efficacité à long terme, le risque d'apparition de résistances des parasite et d'autres bactéries, notamment aux ionophores, et de la présence de résidus dans les produits alimentaires (F.V.E., 2016). A terme, une évolution de la réglementation européenne pourrait ne plus considérer ces molécules comme des additifs et donc limiter leur usage, comme c'est déjà le cas dans d'autres pays hors UE ou sous certains cahiers des charges de production.

La vaccination au couvoir, ou entre 3 et 5 jours en élevage, est une alternative majoritairement utilisée dans des productions avec des cahiers des charges spécifiques, pour lesquels les anticoccidiens sont interdits (viande de volailles sous signe de qualité, sans antibiotique par exemple). Cette méthode de prévention n'implique pas de délai de retrait dans l'aliment des volailles, ni de risque de résidus dans la viande. Par contre, la vaccination est plus onéreuse et ne permet pas de limiter la multiplication de certaines bactéries pathogènes de l'intestin, dont *Clostridium perfringens* responsable de l'entérite nécrotique chez les volailles, comme peuvent le faire des molécules anticoccidiennes.

L'incorporation de substances aromatiques dans l'aliment, dont des extraits de plantes et des huiles essentielles (H.E.), en l'absence de traitement anticoccidien chimique, est une 3ème solution pour la gestion du risque coccidiose et du risque entérite. Dans un travail collaboratif, IDENA et l'INRAE AIM (Apicomplexes et Immunité Mucosale), ont montré *in vitro* les effets de certaines substances aromatiques à différents stades de développement de la coccidie (sporulation, invasion et développement dans la cellule intestinale - résultats non publiés). Egalement, d'autres travaux de Recherche & Développement menés par IDENA en collaboration avec l'Université de Lille 2 (Droit et Santé) ont montré l'efficacité *in vitro* de certaines substances aromatiques sur des bactéries pathogènes, dont *C. perfringens* (Dubreuil, 2015).

L'objectif de cet essai est d'évaluer *in vivo* l'intérêt de ces substances aromatiques pour le maintien des performances techniques chez le poulet de chair non protégé contre la coccidiose ou vacciné, en comparaison avec des animaux recevant un vaccin seul ou un anticoccidien via l'aliment.

1. MATERIELS ET METHODES

L'étude s'est déroulée dans un bâtiment de 1200 m², basé dans les Côtes d'Armor (France, 22) recevant 26 400 poussins Ross 308. Il était équipé d'une ventilation dynamique de type Colorado. Sur un côté du bâtiment (entrées d'air), 40 cases expérimentales de 2,35m² équipées d'une mangeoire et de pipettes, ont été disposées. Ce dispositif permet un essai en conditions conventionnelles d'élevage.

1.1. Animaux et élevage

Un total de 1 600 poussins Ross 308 mâles d'un jour (issus d'un couvoir commercial) ont été séparés en 5 groupes de 8 parcs, disposés aléatoirement par bloc, à raison de 40 poulets par parc (soit une densité de 17 poulets/m²). Les animaux ont été vaccinés au couvoir contre la bronchite infectieuse (spray) et à 17 jours contre la maladie de Gumboro (eau de boisson). Le bâtiment était éclairé artificiellement (J0 à J4 :24h de lumière à 100% d'intensité, J5 à J35 : 20h de lumière avec 30-40% d'intensité), et chauffé par 2 canons à gaz. La litière était en paille de blé.

1.2. Alimentation

Les animaux sont nourris *ad libitum* avec un régime blé-maïs-tourteau de soja [maïs (entre 20 et 25 %), blé (40-50%), tourteau de soja (20,5%-28%) majoritaires] composé de 3 aliments (démarrage, croissance et finition) dont les principales caractéristiques nutritionnelles sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1. Programme alimentaire

	Démarrage	Croissance	Finition
Age	J1-11	J12-21	J22-35
Présentation	Granulés 2,5mm	Granulés 2,5mm	Granulés 3mm
Quantité/animal (kg)	0,410	0,810	2,300
E.M. (kcal /kg)	2 982	3 114	3 120
Protéine Brute analysable (%)	20,8	19,4	18,2

Les caractéristiques des 5 groupes de poulets sont détaillés dans le tableau 2. Le groupe 1 (G1) correspond à des volailles vaccinées contre la coccidiose et ne recevant aucune supplémentation dans l'aliment. Le groupe 2 (G2) est protégé contre la coccidiose via l'incorporation, dans l'aliment, de deux anticoccidiens largement répandus sur le marché et composé de narasin et de nicarbazine. Les groupes 3 (G3) et 4 (G4) sont supplémentés avec un mélange de substances aromatiques (AL898), composé d'extraits de plantes, dont certains composants ont montré des effets *in vitro* sur le cycle de développement des coccidies. G4 est également supplémenté avec un

second mélange de substances aromatiques composé d'extrait de plante (AL709), dont certains composants ont montré des effets contre *C. perfringens* et d'autres bactéries pathogènes *in vitro*. Le groupe 5 (G5) correspond à des volailles vaccinées contre la coccidiose et également supplémentées avec le second mélange de substances aromatiques (AL709).
Les aliments expérimentaux sont fabriqués par le Research Diet Services BV feed factory (Pays-Bas). L'eau est distribuée à volonté.

Tableau 2. Caractéristiques des groupes

Groupe	Caractéristiques
G1	Vaccination contre la coccidiose (5 souches vivantes atténuées : *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis* et *E. tenella*) Aliment non supplémenté de 0 à 35 jours
G2	Aliment démarrage et croissance (0 à 21 jours) supplémentés avec un mélange de 45 ppm de narasin+45ppm de nicarbazine Aliment finition (22 à 35 jours) supplémenté avec 70 ppm de narasin
G3	Aliment supplémenté (0 à 35 jours) avec AL898 (1kg/tonne)
G4	Aliment supplémenté (0 à 35 jours) avec AL898 (1kg/tonne) et AL709 (1kg/tonne)
G5	Vaccination contre la coccidiose (5 souches vivantes atténuées : *E. acervulina, E. maxima, E. mitis et E. tenella*) Aliment supplémenté (0 à 35 jours) avec AL709 (1kg/tonne)

1.3. Mesures

Le poids vif (P.V.) moyen par parc est mesuré à J10, J21, J28 et J35 (pesée d'un parc entier divisé par le nombre d'animaux total). Le Gain Moyen Quotidien (G.M.Q.) est également calculé : différence entre le poids moyen en fin de période et celui en début de période, divisé par le nombre de jours (les animaux morts n'ont pas été pris en compte). La consommation d'aliment par période est mesurée pour chaque par parc afin de déterminer l'indice de consommation (I.C.), calculé en divisant le total d'aliment consommé par période sur le gain de poids total durant la période (poids des animaux vivants + morts et sacrifiés).
La mortalité journalière est enregistrée par parc.
A J28, 1 poulet par case, de poids représentatif de la moyenne du lot, est euthanasié et des scores lésionnels de l'intestin sont réalisés par le Laboratoire vétérinaire Labofarm (France, 22), selon la méthode décrite par Johnson et Reid (1970) pour les 3 espèces de coccidies : *E. acervulina, E.maxima,* et *E. tenella.*

1.4. Traitement des données

Les résultats des 5 groupes sont comparés à l'aide d'une analyse de la variance (ANOVA). Lorsque les conditions initiales ne sont pas respectées, un test non-paramétrique de Kruskal Wallis est réalisé.
Des comparaisons multiples de moyennes sont effectuées à l'aide du test de Tukey lorsque les résultats de l'ANOVA ou du test de Kruskal Wallis sont significatifs au seuil de $P<0,05$.

2. RESULTATS

2.1. Performances

Les performances techniques des 3 groupes sont résumées dans le tableau 3. A 10, 21, 28 jours il n'y a pas de différences de P.V. entre les groupes.
Sur la période 10-21 jours, on observe des différences significatives entre le G.M.Q des différents groupes (p-value=0,048). Les poulets du groupe G2, supplémentés avec des anticoccidiens, affichent un G.M.Q. significativement supérieur à G3 (AL898).
En revanche, sur la période 21-28 jours, G2 obtient numériquement le plus faible G.M.Q. (Non Significatif) par rapport aux autres groupes. G4 (AL898+AL709) obtient le G.M.Q. le plus élevé sur cette période (+3,7g vs G2 – N.S.) et l'écart-type le plus faible pour le P.V., l'écart-type des P.V. étant numériquement le plus élevé pour G1 (vaccination coccidiose seule – écart-type P.V.=53,7g).
A 21 jours, l'I.C. est significativement amélioré pour G2 (p-value=0,0002), par rapport à tous les autres groupes, principalement dû à une différence significative sur la période 10-21 jours. A 28 jours, il n'y a plus de différence d'I.C. entre les groupes.
Finalement à 35 jours, l'I.C. de G2 (narasin-nicarbazine) est significativement amélioré par rapport à G1 (vaccin seul) tandis que les 3 autres groupes ont des I.C. intermédiaires (p-value=0,048). Les P.V. sont numériquement plus élevés (N.S.) pour G2 (narasin-nicarbazine) et G4 (AL898+AL709), intermédiaires pour les groupes G5 (vaccin+AL709) et G3 (AL898) et plus faibles pour G1 (vaccin seul). L'écart-type des P.V. est plus faible pour G4 par rapport à G2.

Tableau 3. Performances techniques des poulets de chair par période et par groupe

	G1	G2	G3	G4	G5	p-value
Résultats 0-10 jours						
P.V. (g) à 10j	274,6 ±12,2	272,5 ±4,1	268,7 ±20	273,4 ±8,7	273,4 ±8,7	>0,05
G.M.Q. (g / j)	26	25,7	25,6	25,8	26	>0,05
I.C.	0,957	0,949	0,958	0,951	0,949	>0,05
Résultats 10-21 jours						
P.V. (g) à 21j	899,3 ±36,4	926,2 ±22,1	886,2 ±33,9	901 ±32,3	901,9 ±27,7	>0,05
G.M.Q. (g / j)	56,8 **ab**	59,4 **a**	56,1 **b**	57,0 **ab**	56,9 **ab**	0,048
I.C.	1,283 **b**	1,252 **a**	1,280 **b**	1,279 **b**	1,273 **b**	0,0002
Résultats 21-28 jours						
P.V. (g) à 28j	1455,6 ±53,7	1471,5 ±35,0	1442,7 ±42,9	1472,1 ±28,4	1456,1 ±32,8	>0,05
G.M.Q. (g / j)	79,5	77,9	79,5	81,6	79,2	>0,05
I.C.	1,409	1,397	1,407	1,402	1,4	>0,05
Résultats 28-35 jours						
G.M.Q. (g / j)	83,8	85,3	86	86,6	85,3	>0,05
Résultats 0-35 jours						
P.V.	2072,1	2120,5	2090,4	2113,3	2095,5	>0,05

(g) à 35j	±46,4	±60,4	±51,1	±48,5	±47,4	
I.C.	1,539 **b**	1,512 **a**	1,530 **ab**	1,524 **ab**	1,528 **ab**	0,048

2.2. Mortalité

Les pourcentages de mortalité moyens par groupe à 35 jours sont présentés dans le tableau 4. Il n'y a pas de différences significatives de mortalité entre les 5 groupes à 35 jours.

Tableau 4. % de mortalité moyen par groupe

Résultats mortalité à 35 jours (%)					
G1	**G2**	**G3**	**G4**	**G5**	**p-value**
4,4 ±2,3	2,8 ±2,5	3,1 ±2,9	6,9 ±4,6	4,4 ±3,5	>0,05

2.3. Scores lésionnels

A 28 jours, les scores lésionnels pour les 3 types de coccidies observées sont faibles, en moyenne inférieurs à 2 sur l'échelle de notation de 1 à 4, établie par Johnson et Reid (Figure 1).

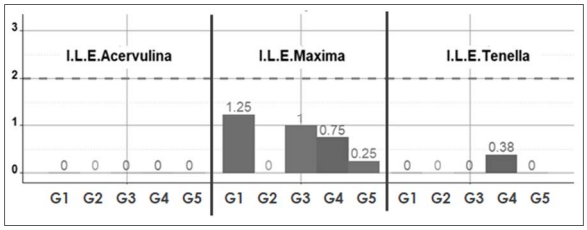


Figure 1: Scores lésionnels moyens à 28 jours obtenus après autopsie des poulets de chair par groupe

3. DISCUSSION

Dans cet essai, des scores lésionnels faibles ont été obtenus (<2 selon la méthode de Johnson et Reid), indiquant une pression coccidienne faible pour tous les groupes et sans inoculation expérimentale de coccidies. En l'absence de témoin sans protection anticoccidienne dans le design expérimental, il aurait été intéressant d'évaluer en parallèle la pression coccidienne du lot en place simultanément dans le bâtiment commercial.

Des différences de G.M.Q. et d'I.C. périodiques ont été observées entre les différents groupes.

A 21 jours, le groupe G2 (narasin-nicarbazine) obtient des résultats zootechniques améliorés par rapport aux autres groupes (G.M.Q et I.C). Ces résultats reflètent ceux observés sur le terrain, mais également dans plusieurs références de la littérature. Par exemple, dans une expérience menée récemment par Farran *et al.* (2020), l'association de ces deux mêmes molécules avait permis des résultats techniques améliorés chez des volailles, en comparaison de l'association d'autre ionophore au narasin sur la période 0-27 jours. L'association de deux molécules anticoccidiennes, l'une ionophore et l'autre de synthèse contribue à la protection des volailles contre la coccidiose en combinant deux modes d'actions différents. Les ionophores sont produits par fermentation bactérienne et perturbent principalement les échanges d'ions (Na^+, K^+) au niveau des cellules parasitaires tandis que les anticoccidiens de synthèse sont des inhibiteurs enzymatiques des parasites. Leur association limite également la prolifération d'agents pathogènes secondaires, se traduisant principalement par une amélioration de la croissance et de la valorisation de l'aliment. Après 21 jours et changement de l'anticoccidien pour le groupe G2 (narasin seul), une réduction de la croissance et des écarts d'indice par rapport aux autres groupes ont été observés. Une étude menée au Brésil en 2021 par Kraieski *et al.,* a testé l'efficacité de plusieurs anticoccidiens sur des poulets Cobb500 inoculés avec des oocystes *d'E. acervulina et maxima* isolés d'échantillons de fientes prélevées dans 26 élevages choisis pour la prévalence élevée de ces deux espèces de coccidies. Elle a montré qu'il existait des différences de réponses zootechniques selon les molécules. Également, l'observation de coccidies ou autres bactéries résistantes a déjà été rapportée, engendrant des baisses de performances et des pathologies dans les cas les plus graves. Dans le cadre de l'utilisation du narasin, un exemple est rapporté par Simm *et al.* (2019) avec l'émergence de *E.faecium* résistants.

Les performances des animaux vaccinés (G1) sont les plus faibles, avec notamment un indice de consommation significativement plus élevé que le groupe G2 (narasin-nicarbazine) à 35 jours. Des baisses de performances, pouvant être associées à des passage d'entérite d'origine bactérienne, sont parfois rapportées dans la littérature, lorsque les animaux étaient vaccinés contre la coccidiose (Chapman, 2002, Kuçukyilmaz, 2012). La relation entre coccidies et entérite est étroite. Elle peut notamment s'expliquer par l'augmentation de la production de mucus et la libération des protéines plasmatiques par endommagement, par les coccidies, des cellules épithéliales intestinales, augmentant ainsi la disponibilité des nutriments pour la croissance de *C. perfringens* (Yang *et al.* 2020, Adhikari *et al.* 2020). Dans notre étude, nous n'avons toutefois pas observé de signes cliniques d'entérite nécrotique sur les animaux.

Dans notre essai, l'addition d'un additif composé de substances aromatiques dans l'aliment des animaux vaccinés contre la coccidiose (G5), a permis d'améliorer numériquement les performances par rapport à l'administration du vaccin seul, sans supplémentation dans l'aliment. Des études ont montré, que des vaccins (vivants) contre la coccidiose fonctionnaient plus efficacement lorsqu'un additif ayant une activité anticlostridienne était ajouté à l'aliment (Cervantes, 2015). Dans le cadre du développement d'alternatives aux antibiotiques, il a été montré que des substances aromatiques, telles que des actifs phytochimiques ou des huiles essentielles, pouvaient être utilisés pour leurs propriétés anti-virale, anti-microbienne, anti-oxydante et anti-inflammatoire, avec, pour certains, une spécificité à limiter la prolifération de *C. perfringens* dans

l'intestin des volailles (Adhikari *et al.* 2020). L'ajout de substances aromatiques ayant montré *in vitro* une efficacité contre *C. perfringens,* dans des régimes de poulets vaccinés contre la coccidiose semble donc être une solution pour améliorer leurs performances techniques. Ceci a par exemple été démontré par Yang *et al.* (2020), qui associaient des huiles essentielles encapsulées de citral et de cinnamaldhéyde dans l'aliment de volailles vaccinées contre la coccidiose. Dans notre étude, le mélange de substances aromatiques utilisé avait déjà montré son efficacité dans des essais commerciaux, notamment chez des poulettes vaccinées contre la coccidiose, dont le lot non supplémenté avait connu deux passages d'entérites (résultats internes - non publiés).
Les groupes G3 et G4 sont supplémentés avec un mélange de substances aromatiques, dont des extraits de plantes, visant à protéger les animaux en l'absence d'utilisation d'anticoccidien ou de vaccination. G4 a reçu également, en association, un second mélange de substances aromatiques afin de minimiser les risques d'entérites. Les substances aromatiques, dont les huiles essentielles et les extraits de plantes, ont montré dans la littérature des taux de réussites variés dans le cadre de la prévention de la coccidiose et du maintien des performances zootechniques (Alikhari *et al.* 2020). Leur nature et leur dose d'utilisation semblent avoir des effets non négligeables sur leur efficacité. Dans notre étude, la formulation (type d'actifs et doses) de la supplémentation présente dans l'aliment des groupes G3 et G4 est issue de résultats obtenus *in vitro* sur différents stades du cycle de vie des coccidies, dans le cadre d'un projet collaboratif mené par IDENA et l'INRAE AIM de Nouzilly (France). Elle a permis d'obtenir des résultats de poids vif et d'I.C. intermédiaires aux groupes G1 (vaccin seul) et G2 (anticoccidiens), et confirme les précédents résultats obtenus avec ces mêmes extraits, tant en stations expérimentales que sur le terrain, avec des résultats techniques comparables à ceux de volailles recevant des coccidiostatiques ou un vaccin contre la coccidiose. Par exemple, lors d'un essai réalisé en 2018 par IDENA (Canin *et al.,* 2019) en station expérimentale, la comparaison des mêmes traitements (G1=vaccin coccidiose, G2=narasin-nicarbazine puis narasin seul, G3=mélange identique de substances aromatiques) avait permis d'obtenir des performances non différentes et sans lésion coccidienne observée à l'autopsie. Toutefois, le groupe recevant des anticoccidiens avaient quand même obtenu des performances techniques numériquement supérieures (+42g de P.V. et -0.01 pt d'I.C. en moyenne à 35 jours). Le renforcement de la formulation avec des actifs plus ciblés pour une diminution du risque entérite dans le groupe G4 semble permettre une réponse zootechnique améliorée, permettant d'obtenir des performances proches et plus homogènes par rapport à G2 (narasin-nicarbazine) pour le poids vif. Ces résultats peuvent s'expliquer par le lien connu entre coccidiose et entérite, décrit précédemment et montre l'intérêt de tenir compte simultanément de ces deux problématiques.

4. CONCLUSION

Cette étude indique que les supplémentations testées, à base de substances aromatiques, dont des extraits de plantes, et introduites dans l'aliment, peuvent représenter une solution intéressante pour le maintien des performances techniques chez le poulet de chair ne recevant pas d'anticoccidiens dans l'aliment ou vacciné contre la coccidiose. La prise en compte du risque entérite dans la prévention de la coccidiose et de ses conséquences est importante pour l'obtention de meilleures performances techniques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adhikari P., 2020. J. Appl. Poult. Res., 29, 515-534.
Canin A., 2019, 13ème Journées de la Recherche Avicole, 727-731.
Chapman H.D., 2002. Intern. Journ. For Paras., 32, 617-629.
Chapman H.D., 2010, Poultry Science 89, 1788–1801.
Cervantes H., 2015. J. Appl. Poult. Res., 24:91–97.
Crevieu-Gabriel I., Naciri M., 2001. INRA Prod. Anim., 14.4, 231-246.
Dubreuil L., 2015. In : Rapport, Université de Lille 2 – droit et santé.
Farran M.T., 2020. J. Appl. Poult. Res., [En ligne: https://doi.org/10.1016/j.japr.2020.05.002].
FEDERATION OF VETERINARIANS OF EUROPE, 2016 [En ligne :
https://fve.org/cms/wpcontent/uploads/FVE-position-paper-on-coccidiostats-or-anticoccidials.pdf].
Johnson J., Reid W.M., 1970. Experimental Parasitology, 28.1, 30-36.
Kuçukyilmaz K., 2012, Ital.J.Anim.Sci., 11:e1, 1-8.
Kadykalo S., 2018. Intern. Journ. of Antimicrobial Agents, 51, 304-310.
Kraieski A.L., 2021. Poultry Science, 100:101233.
Simm R., 2019. PLOS ONE journ, [En ligne : https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226101].
Yang C., 2020. Poultry Science, 99:936–948.

INTÉRÊT DE SUBSTANCES AROMATIQUES CHEZ LE POULET DE CHAIR ALIMENTÉ SANS ANTICCOCIDIEN OU VACCINÉ CONTRE LA COCCIDIOSE

idena
LA NUTRITION ANIMALE INNOVANTE PAR NATURE

Mars 2022

Canin A., Mahieu A., Desbordes P., Greuter A., Domitile R.
IDENA, 44880 Sautron, France Contact : amandine.canin@idena.fr

INTRODUCTION

Il existe aujourd'hui 2 solutions majoritaires et efficaces pour la gestion de la coccidiose chez les volailles de chair, mais qui possèdent des limites :

- **Les molécules anticoccidiennes** sont les solutions les plus utilisées pour limiter l'infection et maintenir les performances zootechniques. Cependant, leur utilisation massive dans l'aliment posent les questions des résistances bactériennes et des résidus dans les produits alimentaires, et pourrait être plus contrainte à l'avenir par la réglementation.
- **La vaccination** est une alternative majoritairement utilisée mais elle représente un investissement supérieur et ne permet pas de gérer les problématiques sous-jacentes d'entérite.

L'incorporation de substances aromatiques dans l'aliment est une voie explorée pour la gestion du risque coccidiose et du risque entérite.

OBJECTIF: Évaluer in vivo l'intérêt zootechnique de mélanges de substances aromatiques chez le poulet de chair non protégé contre la coccidiose par des anticoccidiens ou vacciné.

MATÉRIEL & MÉTHODES

L'étude s'est déroulée dans un bâtiment conventionnel de 1200 m² recevant 26 400 poussins Ross 308 et équipés de cases expérimentales réparties sur un côté du bâtiment.

ANIMAUX :

- 1600 poussins Ross 308
- **5 groupes** X 8 parcs (40 poulets/parc)

MESURES :

- **Poids vifs** et **consommations alimentaires** par parc à J10, J21, J28 et J35.
- **Scores lésionnels** à 28 jours sur 1 poulet/parc pour 3 espèces de coccidies *(E. acervulina, E. maxima, et E. tenella)*. Réalisé par le laboratoire vétérinaire Labofarm (France, 22), méthode décrite par Johnson et Reid (1970).

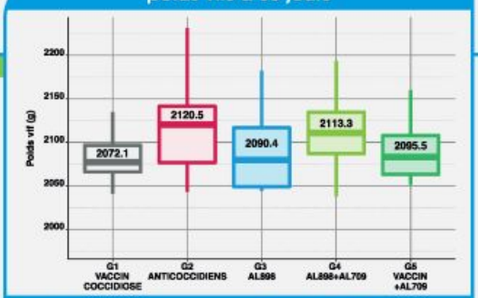
TRAITEMENTS	DÉMARRAGE 1-11 jours	CROISSANCE 12-21 jours	FINITION 22-35 jours
ALIMENTS Fabriqués par Research Diet Services BV feed factory (Pays-Bas)	2982 Kcal/kg – 20,8 % PB Granulés 2,5mm 0,410 kg/poulet	3114 Kcal/kg – 19,4 % PB Granulés 2,5mm 0,810 kg/poulet	3120 Kcal/kg – 18,2% PB Granulés 3mm 2,300 kg/poulet
G1 : VACCIN COCCIDIOSE	5 souches vivantes atténuées : *E. acervulina, E. maxima, E. mitis et E. tenella* Aliment non supplémenté de 0 à 35 jours		
G2 : ANTICOCCIDIENS	45 ppm de narasin + 45ppm de nicarbazine dans l'aliment		70 ppm de narasin dans l'aliment
G3 : AL898	1 mélange de substances aromatiques (1kg/t d'aliment) Activité montrée in vitro sur le développement des coccidies		
G4 : AL898 + AL709	2 mélanges de substances aromatiques (1kg/t d'aliment chacun) Activité montrée in vitro sur le développement des coccidies Activité montrée in vitro sur le développement de C. perfringens et autres pathogènes		
G5 : VACCIN COCCIDIOSE + AL709	5 souches vivantes atténuées : *E. acervulina, E. maxima, E. mitis et E. tenella* + 1 mélange de substances aromatiques (1kg/t d'aliment) Activité montrée in vitro sur le développement de C. perfringens et autres pathogènes.		

RÉSULTATS & CONCLUSION

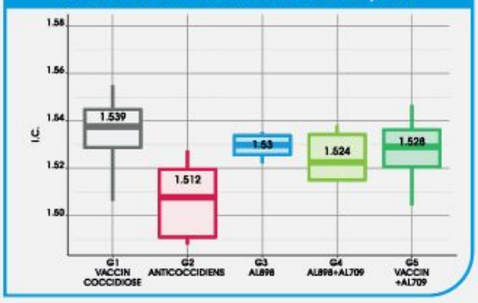
- **À 35 jours,** le **poids vifs moyen de G2** (anticoccidiens) est numériquement **amélioré par rapport à G1** (vaccin coccidiose). **Les 3 autres groupes supplémentés avec des substances aromatiques (AL898 et AL709) obtiennent des P.V. intermédiaires** (Anova, α=5%, N.S.).
- **L'indice de consommation de G2** (anticoccidiens) est **significativement amélioré par rapport à G1** (vaccin coccidiose). **Les 3 autres groupes (substances aromatiques) obtiennent des I.C. intermédiaires** (Anova, α=5%, p-value=0,048).
- Les **scores lésionnels** observés à 28 jours sont **en moyenne <2** pour tous les groupes.

Les substances aromatiques testées dans l'aliment (AL898 et AL709) présentent un intérêt pour le maintien des performances techniques chez le poulet de chair non protégé contre la coccidiose par des anticoccidiens ou vacciné.

poids vifs à 35 jours



indice de consommation de 35 jours



idena | LA NUTRITION ANIMALE INNOVANTE PAR NATURE

idena.fr | JRA

UN MÉLANGE MICROENCAPSULÉ DE SUBSTANCES AROMATIQUES DANS UN MODÈLE DE COCCIDIOSE CHEZ LES POULETS DE CHAIR

Tugnoli Benedetta[1], Piva Andrea[1,2], Grilli Ester[2,3]

[1] VETAGRO S.P.A. - via Porro 2 - 42124 REGGIO EMILIA (Italie),
[2] UNIVERSITE DE BOLOGNE, DIMEVET - via Tolara di Sopra 50 - 40064 OZZANO EMILIA, BO (Italie)
[3] VETAGRO INC. - 17 E Monroe St. Suite #179 - 60603 CHICAGO, IL (USA)
benedetta.tugnoli@vetagro.com

RÉSUMÉ

Le but de cette étude était de tester *in vivo* l'activité anticoccidienne d'un mélange microencapsulé de substances aromatiques chez des poulets de chair artificiellement infectés par des coccidies *Eimeria*. Un total de 1 500 poussins d'un jour (Cobb 500) a été réparti dans des enclos (50 poussins/enclos) et en 3 groupes (10 enclos/groupe) : contrôle négatif (NEG), avec un régime de base, non challengé ; contrôle positif (POS), avec un régime de base, challengé ; groupe traité (TRT), avec un régime de base complété par un mélange microencapsulé de substances aromatiques à 250 g/MT, challengé. Le défi consistait en une inoculation orale avec un inoculum multi-espèces d'*Eimeria* au jour 21. L'étude a duré 42 jours. Des observations de lésions intestinales et excrétions fécales d'oocystes ont été faites au jour 28, et des performances de croissance enregistrées tout au long de l'étude. Les données ont été analysées par ANOVA et les différences ont été considérées comme significatives à $P < 0,05$. Au cours de la première semaine après l'infection, le groupe POS a montré des performances de croissance réduites par rapport au témoin NEG, le groupe traité, malgré le challenge, a montré un gain de poids corporel et un IC significativement meilleurs ($P < 0,05$) que le groupe POS. Du challenge jusqu'à la fin d'élevage et sur la période globale, l'IC du groupe traité (TRT) était comparable à celui du groupe NEG, non challengé ($P < 0,001$). Le groupe TRT a montré des scores de lésions intestinales réduits pour *Eimeria* spp. à 28j ($P < 0,05$) et une excrétion fécale d'oocystes numériquement inférieure à celle du groupe POS. Ainsi, le mélange microencapsulé de substances aromatiques utilisé a le potentiel de contenir la perte de performance et les lésions intestinales associées à un challenge de coccidiose chez les poulets de chair.

ABSTRACT

A microencapsulated mixture of flavoring substances in a model of coccidiosis in broilers

The aim of this study was to test the anticoccidial activity of a microencapsulated blend of flavoring substances *in vivo* in broilers artificially infected with *Eimeria* cocci. A total of 1,500 day-old chicks (Cobb 500) were divided in pens (50 chicks/pen) and assigned to 3 groups (10 pens/group): negative control (NEG), fed a basal diet, not challenged; positive control (POS), fed a basal diet, challenged; treated (TRT) group, fed a basal diet supplemented with a microencapsulated blend of flavoring substances at 250 g/MT, challenged. The challenge consisted of an oral inoculation with a multispecies *Eimeria* inoculum at day 21. The study lasted 42 days with intestinal lesions and oocysts per gram (OPG) of feces determined on day 28, and growth performance recorded throughout the study. Data were analyzed with ANOVA and differences considered significant at $P<0.05$. In the first week after the infection, the challenge did have a negative impact on growth performance for the POS group compared to the NEG control, while the treated group, despite the challenge, showed already significantly better body weight gain and FCR. From the cocci challenge to the end and for the overall period, FCR of TRT group was comparable to the NEG not-challenged group ($P<0.001$). Moreover, TRT group showed reduced intestinal lesion scores for *Eimeria* spp. at d28 ($P<0.05$) and numerically lower fecal shedding of oocysts compared to POS group. To conclude, the microencapsulated blend of flavoring substances used in this study has the potential to contain loss of performance and intestinal lesions associated with coccidiosis challenge in broiler chickens.

INTRODUCTION

La coccidiose aviaire est l'une des maladies les plus courantes et économiquement importantes dans le secteur de la volaille, causée par des protozoaires appartenant au genre *Eimeria*. Cette maladie se caractérise par une réduction sévère des performances de croissance, avec un coût économique estimé à 13 milliards USD chaque année (Blake et al. 2020). De plus, les dommages intestinaux causés par *Eimeria* spp sont considérés comme le principal facteur prédisposant à l'entérite nécrotique causée par *C. perfringens*, largement reconnu comme l'un des principaux défis pour l'industrie mondiale de la volaille (Quiroz-Castaneda & Dantan-Gonzalez, 2015 ; Timbermont et al., 2011).
Une prise en charge appropriée est essentielle pour contrôler la coccidiose sur le terrain, mais - étant donné sa fréquence et sa diffusion - des outils pharmacologiques de prévention et de contrôle sont nécessaires. Ces traitements incluent l'utilisation de traitements anticoccidiens, généralement appliqués dans des programmes de navette ou des programmes de rotation avec une vaccination effectuée principalement en période estivale (Quiroz-Castaneda & Dantan-Gonzalez, 2015 ; Györke et al., 2013). En raison de l'émergence de plus en plus fréquente de résistances aux traitements traditionnels chimiques, il est nécessaire de rechercher de nouvelles molécules efficaces pour contrôler ces agents pathogènes. Dans ce contexte, un grand intérêt a été porté aux molécules botaniques et aromatiques qui ont montré des propriétés anticoccidiennes *in vitro*, en interférant de diverses manières avec le cycle de vie d'*Eimeria* (Felici et al., 2021).
Le but de cette étude est d'évaluer *in vivo* l'activité anticoccidienne d'un mélange microencapsulé de substances aromatiques chez des poulets de chair artificiellement infectés par des *Eimeria*.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Un total de 1500 poussins d'un jour (Cobb 500) a été réparti dans des enclos (50 poussins/enclos) et en 3 groupes (10 enclos/groupe) :
1) Contrôle négatif (NEG), nourri avec un régime de base, non challengé ;
2) Contrôle positif (POS), nourri avec un régime de base, challengé ;
3) groupe traité (TRT), nourri avec un régime de base complété par un mélange microencapsulé de substances aromatiques à 250 g/MT pendant toute l'étude de 0 à 42 j, challengé.
Les poulets ont été nourris *ad libitum* à partir de la date d'arrivée des poussins comme suit : phase de démarrage (0-21 jours), phase de croissance (21-35 jours), phase de finition (35-42 jours). Les rations se composaient de régimes commerciaux non médicamenteux composés selon les directives du NRC (1994) et étaient servis sous forme de miettes (démarrage) ou de granulés (croissance et finition).
Le challenge coccidien consistait en une inoculation orale avec plusieurs espèces d'*Eimeria* collecté du terrain (*E. acervulina* 100 000 oocystes, *E. maxima* 50 000 oocystes, *E. tenella* 75 000 oocystes) au jour 21. Au jour 28, 5 oiseaux/enclos ont été sacrifiés et examinés pour les lésions intestinales *Eimeria* selon la ométhode de notation de Johnson et Reid (1970) de 0 à 4 avec un score de 0 pour l'intestin normal et un score de 4 pour les lésions les plus sévères. Au jour 28, des échantillons de matières fécales ont été prélevés dans chaque enclos pour dénombrer les oocystes par gramme (OPG) de matières fécales avec la méthode Mc Master afin de déterminer l'excrétion fécale des souches d'*Eimeria*.
Pour les performances de croissance, les aliments administrés et le poids vif ont été enregistrés par enclos aux jours 0, 21, 28, 35 et 42. Ensuite, les paramètres de croissance ont été calculés tels que l'ingéré, le gain de poids corporel et l'IC ajusté à la mortalité. L'unité expérimentale était l'enclos. Les données de performance de croissance ont été analysées par analyse de variance ANOVA suivie du test de Tukey, tandis que les lésions intestinales et les données d'excrétion d'*Eimeria* ont été analysées avec le test T (Graph Pad Prism 6; GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Les différences ont été considérées comme significatives à $P < 0,05$ et les tendances pour $0,05 < P \leq 0,10$.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les données de performance de croissance sont rapportées dans le tableau 1. Au cours de la période de 0 à 21 jours, avant l'infection expérimentale par les coccidies, seule l'ingestion d'aliments était plus élevée dans le groupe POS par rapport au groupe NEG, tandis que la mortalité, les poids moyens et IC étaient équivalents.
Au cours de la première semaine après l'infection, le challenge a eu un impact négatif sur les performances de croissance du groupe POS par rapport au groupe témoin NEG, comme le soulignent un gain de poids corporel plus faible et un IC plus élevé ($P < 0,0001$). Dans le même temps, le groupe TRT, malgré le challenge, a montré des performances déjà meilleures, avec des valeurs de gain de poids corporel et d'IC intermédiaires entre le groupe NEG et le groupe POS, et significativement améliorées par rapport au contrôle POS ($P < 0,0001$).
Du challenge jusqu'à la fin de la période d'élevage (21 à 42 jours) et sur l'ensemble de la période (0 à 42 jours), l'IC du groupe TRT était comparable à celui du groupe NEG non challengé, tous deux significativement inférieurs à ceux du groupe POS ($P < 0,0001$), alors qu'une réduction numérique de la mortalité dans le groupe TRT a été observée.
Dans le tableau 2 sont présentés les résultats concernant les lésions intestinales et le dénombrement

d'*Eimeria* dans les fientes. Par rapport au groupe POS, le groupe TRT a montré une réduction des lésions intestinales causées par *E. acervulina*, *E. maxima* et *E. tenella* ($P < 0,05$) et une réduction numérique de l'excrétion d'*Eimeria* dans les fientes.

Cette étude visait à évaluer l'activité anticoccidienne d'un mélange microencapsulé de substances aromatiques *in vivo* chez des poulets de chair artificiellement infectés par des coccidies d'*Eimeria*. Comme modèle de challenge, nous avons utilisé un protocole d'infection avec *E. acervulina*, *E. maxima* et *E. tenella* afin de reproduire une condition d'infection multi-espèces très courante sur le terrain (Györke et al., 2013). En effet, cette infection multi-espèces a eu un impact négatif sur les performances de croissance des animaux infectés (POS) par rapport aux animaux témoins (NEG). Dans ce modèle, la supplémentation alimentaire avec un mélange microencapsulé de composés aromatiques a permis d'éviter la perte de performance causée par l'infection, montrant des paramètres de croissance comparables au groupe non challengé.

Ce résultat macroscopique peut s'expliquer par l'action bénéfique du traitement au niveau intestinal, comme indiqué par la diminution des lésions intestinales causées par *E. acervulina*, *E. maxima* et *E. tenella*, c'est-à-dire dans tout le tractus intestinal (proximal, moyen et distal - Attree et al., 2021). Ce résultat est cohérent avec l'activité anticoccidienne démontrée *in vitro* pour diverses substances botaniques et aromatiques (Felici et al., 2021). De plus, ce résultat suggère que la microencapsulation peut être un outil valable pour délivrer l'action anticoccidienne des composés aromatiques tout au long du tractus intestinal où se trouvent les différentes espèces d'*Eimeria*.

CONCLUSION

Cette étude a montré que l'infection artificielle par des multi-espèces d'*Eimeria* utilisées dans cet essai peut induire une réduction significative des performances de croissance des poulets de chair, très fréquente pour la coccidiose sur le terrain.

Dans ce modèle de coccidiose, la supplémentation alimentaire avec un mélange microencapsulé de composés aromatiques a permis d'empêcher la perte des performances de croissance, réduisant les lésions intestinales générées par les 3 *Eimeria*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Attree E., Sanchez-Arsuaga G., Jones M., Xia D., Marugan-Hernandez V., Blake D., Tomley F., 2021. CABI Agric Biosci. 2(1): 37.

Blake D.P., Knox J., Dehaeck B., Huntington B., Rathinam T., Ravipati V., Ayoade S., Gilbert W., Adebambo A.O., Jatau I.D., Raman M., Parker D., Rushton J., Tomley F.M., 2020. Vet. Res. 51: 1-14.

Quiroz-Castaneda R.E., Dantan-Gonzalez E., 2015. Biomed Res. Int. 2015:430610.

Timbermont L., Haesebrouck F., Ducatelle R., Van Immerseel F., 2011. Avian Pathol. 40(4): 341-347.

Györke A, Pop L., Cozma V., 2013. Parasite 20: 50.

Felici M., Tugnoli B., Piva A., Grilli E., 2021. Animals 11: 1962-1981.

National Research Council, 1994. 9th rev. edn. National Academy Press, Washington DC

Johnson J., Reid M., 1970. Exp. Parasitol. 28(1): 30-36.

Tableau 1. Performances de croissance

	Contrôle négatif (NEG)	Contrôle positif (POS)	Traitement (TRT)	*P*
Phase : 0-21 jours				
Mortalité (%)	1,0	1,2	1,0	0,94
Ingéré (kg/enclos)	48,74a	51,75b	50,05ab	0,001
Gain de poids (kg/oiseau)	0,667	0,718	0,688	0,21
IC*	1,376	1,368	1,378	0,80
Phase : 21-28 jours				
Mortalité (%)	0,2	0,4	0,5	0,78
Ingéré (kg/enclos)	33,32	32,81	32,17	0,18
Gain de poids (kg/oiseau)	0,425a	0,278b	0,347c	< 0,0001
IC*	1,594a	2,445b	1,884c	0,0001
Phase : 21-42 jours				
Mortalité (%)	3,4	3,9	1,8	0,18
Ingéré (kg/enclos)	116,40	124,32	124,88	0,06
Gain de poids (kg/oiseau)	1,424	1,407	1,497	0,12
IC*	1,843a	2,015b	1,849a	< 0,0001
Total : 0-42 jours				
Mortalité (%)	4,4	5,0	2,8	0,18
Ingéré (kg/enclos)	165,15a	176,06b	174,93b	0,01
Gain de poids (kg/oiseau)	2,091	2,125	2,185	0,15
IC*	1,677a	1,770b	1,684a	< 0,0001

* ajusté à la mortalité

Tableau 2. Score léionnel intestinal selon la grille de J&R (1970) et comptage des oocystes d'*Eimeria* dans les fientes

	Contrôle positif (POS)	Traitement (TRT)	*P*
score lésionnel			
E. acervulina	2,64	1,88	0,001
E. maxima	1,72	1,06	0,002
E. tenella	2,38	1,38	0,003
Oocystes par gram (OPG) d'excréments			
E. acervulina	23202	17655	0,19
E. maxima	3095	777	0,09
E. tenella	15249	10994	0,62
Total *Eimeria*	41547	29426	0,17

EVALUATION DE L'EFFICACITE DE PRODUITS ALTERNATIFS DANS LA PREVENTION DE LA COCCIDIOSE EN POULETS DE CHAIR LABEL

Lamarque Margot, Rochon Fanny, Skiba Fabien

Nutricia – Maïsadour - Route de Saint-Sever 40280 HAUT-MAUCO

rochon@maisadour.com

RÉSUMÉ

La coccidiose est une maladie provoquée par le développement de parasites du genre *Eimeria*, les coccidies, dans la muqueuse intestinale des poulets, qui peuvent entraîner différents impacts sanitaires allant d'une baisse de performances à une mortalité importante. Les méthodes actuelles de prévention sont l'ajout de molécules anticoccidiennes dans l'aliment ou la vaccination au couvoir. L'objectif de l'étude est de trouver des alternatives aussi efficaces d'un point de vue technique qu'économique. Pour cela, trois typologies de produits ont été testées en supplémentation dans l'aliment, comparativement à la vaccination au couvoir, en conditions challengées, à la station expérimentale à Benquet (40). Ainsi, 1440 poulets de chair mâles de souche JA757NK d'un jour ont été séparés en 6 traitements, répétés 6 fois, dans 36 cases soit 240 animaux par traitement. Les poulets des cinq premiers traitements ont été inoculés à J15 avec des coccidies : un témoin négatif, « T- » (sans supplémentation), trois traitements supplémentés (produit A, B, C) et un traitement vacciné, « vaccin » (Paracox 5). Le témoin positif, « T+ » n'a pas été inoculé et n'a pas reçu de supplémentation. Les poulets ont eu un accès à un parcours extérieur à partir de 42 jours. Tout au long de l'élevage (J0-78), les performances zootechniques (poids, consommation, mortalité) ont été enregistrées par parquet. A J21, les scores lésionnels de Reid & Johnson ont été réalisés sur 4 poulets/case, soit 24 poulets par traitement. A 77 jours, aucune différence significative de poids n'est relevée entre les groupes (en moyenne 2,491 kg, p=0,493). Les lésions intestinales du groupe vacciné sont significativement inférieures à celles des autres traitements (*E. acervulina* Vaccin 2,2 Autres 2,9 ; *E. tenella* Vaccin 1,9 Autres 2,5, $p < 0,0001$). Concernant les solutions alternatives, les résultats sont en faveur de l'utilisation du produit C car il a permis de soutenir les performances des poulets pendant la période critique liée à la coccidiose (J0-28), en atteignant des performances similaires aux animaux vaccinés et en obtenant des performances supérieures au T- (GMQ J0-28 T- : 17,9 g/j, Produit C :18,6 g/j, Vaccin :18,7 g/j, p =0 ,034 ; Poids Vif J28 T- : 539 g, Produit C : 559 g, Vaccin : 561 g, $p = 0,041$). De plus, cette solution est neutre économiquement pour les producteurs. Toutefois, ce produit, comme les autres testés, n'a pas eu d'effet sur la diminution des lésions.

ABSTRACT

Evaluation of the efficiency of alternative products in the prevention of coccidiosis in broilers label

Coccidiosis is a disease caused by the development of Eimeria parasites, coccidia, in the intestinal mucosa of broilers. They can be responsible for different health issues from reduced performance to severe mor-tality. The current prevention methods are the addition of anticoccidial molecules in the feed or vaccina-tion at hatchery. The aim of this trial is to find efficient alternatives from both technical and economic points of view. To achieve this, three products were tested as supplementation in feed, compared to vac-cination at hatchery, under challenged conditions, at the experimental station in Benquet (40-France). Thus, 1,440 one-day-old male broilers chicken of strain JA757NK were separated into 6 treatments, re-peated 6 times, in 36 pens ie, 240 animals per treatment. The chickens of the first five treatments were inoculated on D15 with coccidia: a negative control, "T -" (without supplementation), three supplemented treatments (product A, B, C) and a vaccinated treatment, "vaccine" (Paracox 5). The positive control, "T +" was not supplemented or inoculated. The chickens had access to an outdoor course from 42 days old. Throughout the breeding (D0-78), zootechnical performance (weight, consumption, mortality) were rec-orded by pen. On D21, the Reid & Johnson lesion scores were carried out on 4 chickens per pen, ie 24 chickens per treatment. At 77 days, no significant difference in weight was observed between the groups (mean 2,491 kg, $p = 0,493$). The intestinal lesions of the vaccinated group are significantly lower than the other treatments (E. acervulina Vaccine 2,2 Others 2,9; E. tenella Vaccine 1,9 Others 2,5, $p < 0.0001$). Regarding the alternative solutions, the results are in favor of the use of product C. It allowed to support the performance of chickens during the critical period (D 0-28) linked to coccidiosis, to achieve similar performance as vaccinated animals and to obtain greater performance than T- (ADG D0-28 T-: 17,9 g / d, Product C: 18,6 g / d, Vaccine: 18,7 g / d, $p = 0,034$; Live Weight J28 T-: 539 g, Product C: 559 g, Vaccine: 561 g, $p = 0,041$). In addition, this solution is economically neutral for producers. However, this product, like the others tested, had no effect on reducing coccidiosis lesions.

INTRODUCTION

La coccidiose du poulet est une maladie provoquée par le développement et la multiplication de sept espèces de coccidies qui sont des protozoaires du genre Eimeria (Crevieu-Gabriel et Naciri, 2001). Les coccidioses ont des conséquences au niveau sanitaire pouvant aller de troubles digestifs jusqu'à de la mortalité (Silvestre et Répérant, 2019). Les moyens de lutte actuels sont l'utilisation d'anticoccidiens (chimiques ou ionophores) ou la vaccination. L'ajout de molécules coccidiosta-tiques, qui ont un statut d'additifs autorisés par le règlement CE n°1831/2003, permet de limiter l'infection et de maintenir les performances zoo-techniques. Cependant, des résistances à ces molé-cules ont pu émerger (Chapman, 1984). La vacci-nation, deuxième moyen de prévention, peut être administrée directement au couvoir (ou en élevage) mais génère des coûts supplémentaires. Dans la recherche de solutions alternatives, l'incorporation d'extraits de plantes dans l'aliment ouvre une nou-velle voie qu'il convient d'évaluer.

Ce travail avait pour objet de comparer l'effet de trois solutions à base d'extraits de plantes en sup-plémentation dans l'aliment sur les performances de poulets de chair de type label, en alternative à la vaccination, afin de vérifier leur innocuité et leur efficacité dans un contexte de challenge coccidien.

1. MATERIELS ET METHODES

L'étude s'est déroulée dans la station expérimentale Nutricia de Benquet (40), cet essai ayant été approuvé par le comité d'éthique de l'expérimentation animale N°073 Aquitaine Poisson Oiseaux (numéro APAFIS#25455-2020051910543046 V3).

1.1. Animaux et élevage :

1440 poulets de chair mâles d'un jour, de type « label » (souche JA757NK, Hubbard, France) ont été mis en place dans 36 cases de 6 m², à raison de 40 individus par case. Chaque traitement a été répété 6 fois. Ainsi 6 lots de 240 volailles ont été constitués. Les poussins avaient à disposition de l'eau et de l'aliment ad libitum. Les poulets ont été élevés sur sol béton avec litière de copeaux et ont eu accès à un parcours extérieur enherbé spécifique à chaque case à partir de 42 jours d'âge.
Les poulets infectés ont été inoculés à J15 par gavage oral avec 100 000 oocystes d'*E. acervulina* et 10 000 oocystes d'*E. tenella* (inoculum fourni par le service VIPAC de l'ANSES, Ploufragan). 6 lots ont été constitués dont 5 lots qui ont été infectés comparés à un lot non infecté.

1.2. Programmes alimentaires, Aliments :

L'essai comportait des programmes alimentaires constitués de trois aliments chacun qui sont résumés dans le tableau 1. Les produits A, B et C sont incorporés dans l'aliment à des doses respectives de 0,20 % ; 0,05% et 0,10 %.

Tableau 1 : Programmes alimentaires

	Démarrage	Croissance	Finition
Âge	J0-28	J29-51	J52-77
E.M. kcal/kg	2800	2900	3000
Présentation	Miettes	Granulés 2,8 mm	
Protéine	20,5 %	17 %	15,3%

Les caractéristiques des 6 traitements réalisés sont synthétisées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Caractéristiques des traitements

Témoin +	Non inoculé, non traité
Témoin -	Inoculé, non traité
Produit A	Inoculé, extraits de plantes (saponines, phénols, flavonoïdes)
Produit B	Inoculé, extraits de plantes (saponines)
Produit C	Inoculé, extraits de plantes et acides organiques
Vaccin	Inoculé, vacciné Paracox 5

Le produit A est un mélange de saponines et flavonoïdes issus de *Glycyrrhiza glabra* et *Citrus* ainsi que de phénols issus de *Echinacea* spp et *Origanum vulgare.*
Le produit B, quant à lui, est riche en saponines stéroïdiques extraites de *Yucca schidigera* et *Trigonella foenum-graecum.*
Enfin, le produit C contient des acides organiques (fumarique, sorbique, malique et citrique) et des huiles essentielles de thymol, vanilline et eugénol.

1.3. Paramètres mesurés :

Les animaux ont été pesés individuellement à 28, 52 et 77 jours d'âge. La consommation d'aliment a été comptabilisée chaque semaine par case et les mortalités relevées quotidiennement. Le Gain Moyen Quotidien (GMQ) et l'Indice de Consommation (IC) ont été calculés en prenant en compte les animaux morts. A J7 et J13, des prélèvements de fientes ont été effectués pour contrôler le niveau de contamination initial en coccidies dans le bâtiment. Le score lésionnel de Johnson & Reid (Johnson et Reid, 1970) a été réalisé à J21 sur 4 animaux par parquet, soit 24 animaux par traitement. Les animaux ont été abattus à l'abattoir des Fermiers Landais (Saint-Sever, Landes). Après ressuyage, les carcasses de 80 animaux par traitement ont été pesées

individuellement. Une mesure de colorimétrie a été réalisée avec un colorimètre Minolta sur la peau de ces mêmes animaux (critères L,a,b).

1.4. Analyses statistiques :

Les effets des traitements sur la consommation totale, le gain de poids total, l'indice de consommation cumulé ou les autres paramètres zootechniques ont été étudiés par analyse de la variance (ANOVA). Les mortalités sont également analysées par une ANOVA après transformation arcsinus-racine carrée des données.
En cas d'effet significatif, les différences entre traitements ont été analysées par le test de comparaison multiple de moyennes de Student-Newman et Keuls. Les différences sont considérées comme significatives au seuil de probabilité de 5% ($p < 0,05$). Les scores lésionnels ont, quant à eux, été comparés à l'aide du test non paramétrique de Kruskal-Wallis au seuil de probabilité de 5%. Toutes les variables ont été analysées collectivement par case.
Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels Statview5 (SAS, France) et R.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Résultats zootechniques

Les performances zootechniques des 6 lots sont résumées dans le tableau 3.

Des différences significatives sont mises en évidence sur la période de démarrage (J0-28). Post-inoculation (après J15), des différences apparaissent, notamment sur le poids vif à J28, où le témoin positif (non inoculé) ressort statistiquement supérieur aux autres, avec un poids de 598 g, tandis que le témoin négatif obtient le poids le plus faible (539 g), p-value < 0,001. Ce constat valide le modèle expérimental mis en place. Par ailleurs, sur ce poids vif à 28 jours d'âge, le lot vacciné se place à un niveau intermédiaire en étant au-dessus du témoin négatif. Les produits testés, quant à eux, ne sont pas significativement différents du témoin négatif ni du lot vacciné.

Le GMQ de la période de démarrage (J0-28) met en évidence la même différence marquée entre le témoin positif et le témoin négatif. Deux traitements se différencient du témoin négatif (17,9 g/j) : il s'agit du lot vacciné et du produit C qui ont respectivement un GMQ de 18,7 et de 18,6 g/j, p-value < 0,001.
L'IC J0-28 distingue le témoin positif (1,928) des autres traitements, p-value = 0,0011.
Sur la suite de la période d'élevage, pour les autres paramètres étudiés, aucune différence n'est statistiquement mise en évidence. En outre, aucune différence n'est observée sur la mortalité.

2.2 Analyses de fientes

Tableau 4 : Résultats analyses fientes (oocystes/g)

	E. acervulina		*E. tenella*	
	J7	**J13**	**J7**	**J13**
Témoin +	0	0	0	0
Vaccin	200	0	1200	0

Les analyses de fientes (Tableau 4) suggèrent que le bâtiment ne contenait pas d'oocystes ni d'*E. acervulina* ni d'*E. tenella* avant inoculation, comme le suggèrent les résultats des prélèvements effectués à J7 et à J13 dans une case témoin +.
De même, la présence d'oocystes vaccinaux dans les cases d'animaux vaccinés valide la bonne administration du vaccin au couvoir.

2.3 Score Lésionnel

Les résultats des scores lésionnels des 6 lots sont réunis dans le tableau 5.

Tableau 5 : Scores lésionnels de Johnson & Reid à 21 jours

	E. acervulina	*E. tenella*
Témoin +	0,00 ^{a}	0,00 ^{a}
Témoin -	2,83 ^{c}	2,46 ^{bc}
Produit A	3,00 ^{c}	2,54 ^{c}
Produit B	2,92 ^{c}	2,63 ^{c}
Produit C	2,79 ^{c}	2,46 ^{c}
Vaccin	2,21 ^{b}	1,88 ^{b}

Les scores lésionnels mesurés grâce à la grille de Johnson & Reid permettent tout d'abord de valider le modèle expérimental, car le témoin + (non inoculé) obtient un score lésionnel égal à 0 pour les deux espèces regardées.
Ces différents résultats confirment, par ailleurs, la bonne mise en place de l'immunité post-vaccinale à J21, avec des moindres lésions observées chez les animaux vaccinés. En effet, pour *E. acervulina,* seul le lot vacciné (2,21) ressort significativement différent du témoin négatif (2,83). Les produits alternatifs ne permettent pas de réduire les lésions générées par *E. acervulina*.
Pour *E. tenella*, le constat est semblable : le lot vacciné permet de réduire le score lésionnel (1,88)

par rapport au témoin négatif (2,46), même si ces deux résultats ne sont pas statistiquement différents.

Le tableau de répartition sur l'échelle de gravité de 0 à 4 est présenté dans le **tableau 6.**

3- DISCUSSION :

Sur la période à risque (J0-28), l'utilisation du produit alternatif C a permis de maintenir les performances zootechniques, ce qui a pu être mis en évidence par le suivi du GMQ sur cette même phase. Mais pour l'ensemble des poulets, après la baisse de croissance observée liée à l'infestation, les performances ont ensuite rattrapé celles du témoin +, que les animaux aient été supplémentés ou non (témoin -). Les performances d'abattage sont par ailleurs similaires (données non présentées). Il aurait été cependant intéressant de pouvoir analyser l'impact de l'utilisation des différentes molécules alternatives sur les résultats au plus près du challenge coccidien et dans le cadre d'une coccidiose plus sévère. Une pesée supplémentaire lors de la lecture des indices lésionnels à J21 pourrait être rajoutée pour suivre cet effet post-infection avec précision lors de prochains essais. Par ailleurs, les résultats obtenus sur la période à risque sont concordants avec ceux observés par Stefanello et al. (2020) qui montrent une amélioration de l'indice de consommation et du gain de poids avec une supplémentation en acides organiques et huiles essentielles en conditions challengées par rapport à un témoin négatif, y compris sur la période d'infestation.
Les lésions de score supérieur ou égal à 2 sur l'échelle de Johnson & Reid impactent les performances de croissance des poulets, de par leur localisation (duodénum, jéjunum, et iléum) qui sont les lieux d'absorption des nutriments (Conway et al., 1993). Les produits alternatifs testés n'ayant pas obtenus de scores en dessous de 2, il apparaît que pour *E. acervulina* et *E. tenella,* ces produits n'ont pas permis de prévenir d'une infestation coccidienne. Cela concorde avec les résultats de Barbier et al. (2019), qui ne montrent pas d'amélioration des scores lésionnels avec une supplémentation en acides organiques et extraits de plantes sur la période prépatente, pour *E. acervulina et E. tenella,* par rapport à un témoin infecté non traité. Le produit B, riche en saponines extraites de *Yucca schidigera* et *Trigonella foenum-graecum* n'a pas montré de capacité à réduire les indices lésionnels par rapport au témoin négatif. Ces résultats diffèrent de l'étude de Rodríguez et al. (2019), qui montre une amélioration des scores lésionnels par l'ajout de saponines par rapport au témoin négatif lors d'un challenge coccidien. Les travaux de Oelschlager et al. (2019) confirment l'absence d'amélioration des performances (gain de poids et indice de consommation) par l'ajout de saponines, lors de la période d'infestation par rapport à un témoin inoculé et non traité. Ces travaux ont toutefois mis en évidence un rôle immunomodulateur des saponines lors d'un challenge coccidien (réponse lymphocytaire et modification de la structure intestinale), qu'il conviendrait d'étudier dans le cadre d'une coccidiose plus sévère.

4- CONCLUSION :

Le modèle expérimental mis en place ici a permis de tester des produits alternatifs, en conditions d'élevage, grâce à une méthodologie d'infestation maîtrisée et un suivi zootechnique précis.
Les produits A, B et C testés dans cet essai n'ont pas permis de réduire l'impact des lésions coccidiennes dans l'intestin des animaux et leur utilisation ne semble donc pas efficace dans le cadre de la lutte contre la coccidiose, contrairement à la vaccination qui permet la réduction des lésions observées.

Le produit C semble toutefois se distinguer des autres en permettant le maintien de performances similaires à celles obtenues par la vaccination durant la période à risque (J0-28 jours), liée à l'inoculation. L'intérêt de ce produit est toutefois à nuancer et il conviendrait d'évaluer à nouveau son intérêt par rapport à la vaccination, dans le cadre d'une coccidiose plus prononcée. En effet, dans cet essai, il n'a pas été observé de mortalité déclenchée par *E. tenella.* Les effets de la coccidiose ont donc sans doute été atténués, limitant les différences de résultats des poulets appartenant aux différents lots inoculés, vaccinés ou traités avec des produits alternatifs.

Cette étude a permis de conclure sur la comparaison des trois produits. Les recherches devront par ailleurs continuer, afin de sélectionner un produit performant sur la prévention des lésions coccidiennes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chapman, H. D. 1984. *Veterinary Parasitology* 15 (1): 11□27.
- Conway, D. P., Sasai K., Gaafar S. M., et Smothers C. D. 1993. *Avian Diseases* 37 (1): 118-23.
- Crevieu-Gabriel, I., et Naciri M.. 2001, *INRAE Productions Animales* 14 (4): 23□46.
- Barbier, E., Destombes, N., Roulleau, S., Roche, S., Chevalier, D. et Goizin, G. 2019. *13èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 2019*, 667□71.
- Johnson, J, et Reid W.M. 1970. *Experimental Parasitology* 28 (1): 30-36.
- Oelschlager, M. L., Rasheed M. S. A., Smith B. N., Rincker M. J., et Dilger R. N. 2019 *Poultry Science* 98 (8): 3212□22.

- Rodríguez L, Ingrid, César Honorio J, Julia Ramírez S, Zara León G, et Willman Alarcón G. 2019. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 30 (3): 1196□1206.
- Silvestre, A., et Répérant J.M. 2019. *13ème Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras*, 929 p. ITAVI - Institut Technique de l'Aviculture.
- Stefanello, C., Rosa, D.P., Dalmoro, Y. K.,, Segatto, A.L., Vieira,M.S., Moraes, L. M., et Santin E. 2020. Frontiers in Veterinary Science 6.

Tableau 3 : Performances techniques par période et par traitement

	T +	T-	Produit A	Produit B	Produit C	Vaccin	P-value
Résultats 0-28 jours							
PV J28 (g)	598 [a]	539 [c]	551 [bc]	547 [bc]	559 [bc]	561 [b]	< 0,0001
GMQ (g/j)	20 [a]	17,9 [c]	18,4 [bc]	18,2 [bc]	18,6 [b]	18,7 [b]	< 0,0001
IC	1,928 [a]	2 ,094 [b]	2,077 [b]	2,143 [b]	2,128 [b]	2,062 [b]	0,0011
Résultats 29-52 jours							
PV J52 (g)	1555 [a]	1486 [b]	1503 [b]	1486 [b]	1504 [b]	1518 [ab]	0,0087
GMQ (g/j)	39,9	39,5	39,7	39,2	39,4	39,9	NS
IC	2,391	2,353	2,333	2,359	2,358	2,323	NS
Résultats 53-77 jours							
PV J77 (g)	2523	2459	2495	2463	2499	2509	NS
GMQ (g/j)	38,7	38,9	39,7	39,1	39,8	39,6	NS
IC	3,445	3,391	3,352	3,390	3,363	3,345	NS
Mortalité (%)	2,08	2,54	1,67	2,08	2,92	1,25	NS

NS = non significatif (P-value>0.05)

Tableau 6 : Pourcentages arrondis de lésions par niveau sur l'échelle de Johnson & Reid

	E. acervulina					*E. tenella*				
	0	**1**	**2**	**3**	**4**	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**
Témoin +	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Témoin -	0,0	0,0	20,8	75,0	4,2	8,3	8,3	12,5	70,8	0,0
Produit A	0,0	0,0	12,5	75,0	12,5	4,2	8,3	20,8	62,5	4,2
Produit B	0,0	0,0	8,3	91,7	0,0	4,2	0,0	25,0	70,8	0,0
Produit C	0,0	0,0	20,8	79,2	0,0	8,3	0,0	29,2	62,5	0,0
Vaccin	4,2	12,5	41,7	41,7	0,0	16,7	16,7	33,3	29,2	4,2

PRESSION HELMINTHIQUE CHEZ LES VOLAILLES DE CHAIR ET PONTE PLEIN-AIR

Répérant Jean-Michel[1], Dufay-Lefort Anne-Christine[2], Travel Angélique[2]

[1]ANSES - 41 rue de Beaucemaine - 22440 PLOUFRAGAN
[2]ITAVI - 7 rue Faubourg Poissonnière - 75009 PARIS
Jean-Michel.REPERANT@anses.fr

RÉSUMÉ

Les filières avicoles évoluent vers davantage d'élevages en plein-air, ce qui augmente le risque d'infestation par des helminthes parasites, avec un impact sanitaire et économique à la clé. Or, il n'existe pas à ce jour de données sur la prévalence et la pression de ces parasites en France.

Un observatoire a été constitué pour mieux connaître la prévalence de ces vers, en recrutant 40 élevages de poulets de chair et 54 élevages de poules pondeuses, en plein-air ou biologique. Le suivi, réalisé d'août 2019 à mars 2020, a été fait en utilisant une méthode de tamisages successifs des contenus digestifs de quatre sujets pour chaque élevage suivi. Chez les poulets de chair, *Ascaridia* et *Heterakis* ont été identifiés dans 35 % des élevages (aucun *Capillaria* et aucun cestode). *Ascaridia* était plus fréquent (12/40) qu'*Heterakis* (8/40) avec une charge parasitaire plus forte. Sur 25 élevages vermifugés avec des produits classiques, des vers ont été mis en évidence dans seulement 7 cas.

Sur les 54 lots de poules pondeuses, 84 % étaient porteurs de nématodes, dont la moitié hébergeait également des cestodes. Aucun élevage n'avait de cestodes sans nématodes. *Ascaridia*, *Heterakis* et *Raillietina* étaient les vers les plus fréquents, mais *Capillaria*, *Choanotaenia* et *Davainea* ont également été identifiés. Tous les élevages sans traitement ou avec un traitement alternatif à base de plantes étaient porteurs, mais 35 élevages sur 40 avec un traitement classique étaient également porteurs.

Ces premiers résultats indiquent que la pression helminthique est élevée, plus en pondeuses qu'en chair.

ABSTRACT

Helminthic pressure in free-range broilers and layers

Poultry production is moving towards more free-range farming, which increases the risk of infestation by parasitic helminths, with a health and economic impact. However, to date, there is no data on the prevalence and pressure of these parasites in France. An observatory was set up to better understand the prevalence of these worms, by recruiting 40 broiler farms and 54 laying hen farms, in free-range or organic production. The monitoring, held from August 2019 to March 2020, was carried out using a method of successive sieving of the digestive contents of four subjects for each farm monitored. In broilers, *Ascaridia* and *Heterakis* were identified in 35 % of the flocks (no *Capillaria* and no cestodes). *Ascaridia* was more common (12/40) than *Heterakis* (8/40) with a higher parasite load. On 25 farms dewormed with conventional products, worms were detected in only 7 cases. Of the 54 batches of laying hens, 84 % carried nematodes, half of which also harboured cestodes. No farm had cestodes without nematodes. *Ascaridia*, *Heterakis* and *Raillietina* were the most common worms, but *Capillaria*, *Choanotaenia* and *Davainea* have also been identified. All the flocks without treatment or with alternative herbal treatment were carriers, but 35 out of 40 flocks with conventional treatment were also carriers. These initial results indicate that helminthic pressure is high, more in layers than in broilers.

INTRODUCTION

Avec l'essor des élevages en plein-air, la pression des vers intestinaux est en recrudescence. Les volailles élevées en plein-air ont une durée de vie plus longue qu'en production standard, et les infestations helminthiques sont cumulatives : un œuf ingéré donnera un ver adulte qui se maintiendra dans le tube digestif pendant plusieurs mois. Plus les oiseaux vivent longtemps, plus ils ont de chances d'ingérer des œufs qui donneront de plus en plus de vers dans leur organisme.
L'accès aux parcours extérieurs augmente également le risque d'infestation. Même si les œufs peuvent survivre dans les bâtiments fermés, les étapes de nettoyage désinfection et de vide sanitaire réduisent leur quantité. Sur les parcours, il en est autrement, avec des œufs qui persistent et qui peuvent également être véhiculés ou concentrés par des hôtes paraténiques (hôtes non obligatoires, par exemple le ver de terre) ou des transporteurs mécaniques. De plus, les cestodes, vers plats segmentés ayant un cycle de développement complexe, nécessitent des hôtes intermédiaires, en général insectes ou mollusques (escargots, limaces), qui ont plus de chances d'être en contact avec les oiseaux en milieu extérieur.
Les phénomènes de résistance des vers aux molécules anthelminthiques ont été observés dans d'autres productions (ruminants notamment) et il est possible que les vermifuges utilisés en aviculture soient confrontés à ce genre de problèmes, le nombre de principes actifs étant limité. Les seules molécules autorisées chez les volailles sont le lévamisole, la pipérazine, le flubendazole et le fenbendazole, avec des indications contre des nématodes uniquement, aucun produit n'étant autorisé pour lutter contre les cestodes en aviculture.
Enfin, dans certaines productions comme le bio, les éleveurs utilisent des approches alternatives, notamment des mélanges de produits à base de plantes, dont l'efficacité et l'intérêt ne sont pas démontrés de façon rigoureuse expérimentalement.
Tous ces facteurs contribuent à une plus forte pression des vers dans les élevages plein-air, et des témoignages du terrain confirment cette situation.

L'objectif était de répondre à la sollicitation des organisations de production pour connaître la pression helminthique dans les élevages avicoles en plein-air, en améliorant le diagnostic. Une méthode de recherche et d'identification des helminthes du tube digestif a été développée et transférée aux laboratoires d'analyses vétérinaires afin de constituer un observatoire des helminthes en poulets de chair et poules pondeuses en plein-air.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Méthode de recherche des vers

Vingt et un laboratoires d'analyses ont été formés à la méthode de recherche développée à l'Anses (Répérant et al., 2019 et 2020).
Brièvement, cette méthode consiste :
1 – à ouvrir les intestins et les caeca sur toute leur longueur
2 – à examiner les tubes digestifs de quatre à cinq oiseaux pour mise en évidence des vers de grande taille visibles à l'œil nu (*Ascaridia* et grands cestodes)
3 – à collecter les contenus dans un récipient contenant de l'eau tiède, en raclant les muqueuses afin de décoller les vers enfouis dans cette muqueuse
4 – à passer ce contenu sur tamis de maille décroissante (1 mm, puis 250 µm et 100 µm pour les vers les plus petits)
5 – et à examiner les éléments retenus sur les tamis en lavant ces tamis retournés et en observant la suspension sur fond noir.

1.2. Prélèvements

94 élevages ont été inclus dans le suivi. Pour chaque élevage, quatre sujets ont été prélevés et les tubes digestifs ont été traités avec la méthode décrite en 1.1. Le choix du nombre d'animaux s'inspire des effectifs habituels lors de suivis de pression coccidienne (cinq sujets) en l'adaptant à la capacité de tamisage des contenus digestifs plus applicable par les laboratoires d'analyses vétérinaires avec quatre sujets que cinq.
La localisation géographique, le type d'élevage (poulets de chairs ou poules pondeuses), le type de production (label plein-air ou biologique), la méthode de lutte contre les helminthes, la date de prélèvement et d'analyse, la date de dernière vermifugation en cas de traitement, ont été enregistrées et transmises. Les résultats d'analyse détaillaient les espèces de vers, et leur nombre selon trois classes : moins de 5, 6 à 10, 11 et plus.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La répartition par production était de 39 élevages de poulets de chair, 12 bio et 27 en plein-air, et 54 élevages de poules pondeuses, 26 biologiques, 27 plein-air, et un élevage de poules pondeuses en cages. Un élevage de pintades a été analysé, et il a été inclus avec les poulets de chair (n=40).
La répartition géographique reflétait les principales zones de production et la couverture par les laboratoires partenaires du projet.
Les prélèvements ont été réalisés essentiellement entre septembre et décembre 2019, avec quelques élevages de chair en août 2019 et quelques élevages de poules pondeuses de janvier à mars 2020. Cette période peut avoir une influence sur les espèces retrouvées, les cestodes ayant de plus faibles chances d'être présents en grand nombre en hiver

du fait de la plus grande rareté des hôtes intermédiaires pendant cette saison (insectes, escargots/limaces).

Dans les élevages de chair, 31/40 avaient reçu un traitement visant les vers (classique ou alternatif). Aucun cestode n'a été mis en évidence dans ces élevages. 25/31 avaient reçu un traitement classique, et parmi eux, 7 étaient infestés par des nématodes. Neuf élevages n'avaient pas de traitement anthelminthique, et 5 étaient infestés par des nématodes. Enfin, 6 recevaient un traitement alternatif, et 2 étaient infestés. 12 étaient bio, 6 avec traitement et 6 sans. Dans les deux cas, 2 élevages sur les 6 étaient infestés avec des nématodes. En élevage plein-air non biologique, sur les 28 élevages suivis, 25 avaient reçu un traitement classique, et sept de ces élevages étaient infestés par des nématodes. Les trois autres élevages ne bénéficiaient pas de méthode prévention, et les trois étaient infestés par des nématodes.
Les genres de vers retrouvés sont présentés dans le tableau 1. *Ascaridia* était plus fréquent qu'*Heterakis*, et les deux genres ont été retrouvés ensemble dans six élevages. La pression (le nombre de vers retrouvés dans le prélèvement) était plus importante dans les élevages sans traitement anthelminthique en général, mais trois élevages ayant reçu un traitement classique avaient une charge parasitaire élevée (11 vers et plus) en *Ascaridia* et *Heterakis*. Cependant, les délais entre la dernière vermifugation et la date du prélèvement étaient de 18 jours ou plus, ce qui correspond approximativement à la période prépatente de ces deux vers. Ainsi, aucune conclusion sur l'efficacité des produits ou de résistances éventuelles de certaines populations de ces vers ne peut être émise.

Chez les poules pondeuses, 26/54 élevages étaient sous label biologique, et 27 étaient en plein-air non biologique. Un élevage de poules pondeuses standard en cages a également été analysé : il était vermifugé et les oiseaux examinés n'étaient pas porteur de vers.
Dans les élevages biologiques, 12/26 n'avaient pas de prophylaxie anthelminthique, et tous étaient porteurs de nématodes, dont cinq également porteurs de cestodes.
Parmi les 14/26 autres élevages biologiques, 11 avaient un vermifuge classique, dont huit avec des nématodes et six avec également des cestodes. Les trois autres élevages ayant reçu des alternatives à base de plantes étaient tous porteurs de nématodes, dont un également porteur de cestodes.
Dans les élevages plein-air non biologiques, 26/27 avaient eu des traitements classiques et un seul n'avait pas été traité. 23 des 26 lots traités étaient porteurs de nématodes, dont 11 avaient également des cestodes. Les oiseaux examinés du lot non traités hébergeaient des nématodes et des cestodes.

Le détail des genres identifiés dans les élevages de pondeuses est présenté dans le tableau 2. Les nématodes trouvés étaient, par ordre décroissant de présence, *Heterakis* dans 44 élevages, *Ascaridia* dans 38 élevages, et *Capillaria* dans 4 élevages. Concernant les cestodes, *Raillietina* était le plus fréquemment rencontré, dans 22 élevages, mais *Choanotaenia* et *Davainea* ont également été identifiés dans deux élevages pour chacun de ces deux genres.
Les charges parasitaires d'*Ascaridia*, *Heterakis* et *Raillietina* étaient le plus souvent élevées, avec plus de dix vers présents dans les pools de tubes digestifs.
Les élevages de poules recevaient principalement des traitements anthelminthiques classiques, que ce soit en biologique ou non biologique. Cependant, les délais entre le dernier traitement et la date de prélèvement étaient parfois très importants, dépassant 200 jours dans certains élevages. Ces délais importants sont suffisants pour permettre aux populations de vers de se reconstituer après le traitement, par ingestion d'œufs ou d'hôtes intermédiaires hébergeant des formes larvaires, qui évoluent en adultes en un mois environ. Dans les cinq élevages où le délai était inférieur ou égal à 20 jours, deux étaient porteurs de nombreux *Heterakis*, ce qui peut laisser supposer que tous les oiseaux n'ont pas été traités ou que des résistances aux molécules utilisées peuvent avoir émergé. Un de ces cinq élevages était également infesté par de nombreux *Raillietina*, mais les anthelminthiques actuellement autorisés en volailles n'ont pas d'allégation vis-à-vis des cestodes et leur efficacité est médiocre contre ces vers.

Aucune étude récente de prévalence n'est disponible en France, mais quelques publications en Europe indiquent des résultats parfois différents de ceux obtenus dans cette étude. Ainsi, une étude italienne (Wuthijaree et al., 2017) chez des poules pondeuses plein-air rapportait des prévalences de 95 % pour *Heterakis*, 66 % pour *Capillaria* et 63 % pour *Ascaridia* alors que la prévalence de *Capillaria* dans les élevages que nous avons suivis était beaucoup plus faible, de l'ordre de 8 %. Une étude suédoise avec quatre ans d'intervalle entre deux séries de prélèvements (Jansson et al., 2010) a montré une augmentation de la prévalence d'*Ascaridia*, avec 38 % en moyenne d'élevages porteurs sur la deuxième période en 2008, jusqu'à 77 % chez des oiseaux élevés en liberté, ce qui est proche des 70 % obtenus pour cette espèce de ver dans notre étude. Enfin, en Allemagne, des recherches sur 740 poules pondeuses ont abouti à des prévalences très élevées, avec présence d'helminthes chez 99,6% des sujets (Kaufman et al., 2011). Les vers les plus fréquents étaient *Heterakis* et *Ascaridia*, mais les cestodes n'étaient présents que chez 25 % des poules, alors que dans

notre étude, la prévalence de ces vers était de 40 %. Cependant, l'étude allemande a montré une prévalence fluctuante en fonction de la saison, avec une augmentation de 3,5 fois en été. Cette période correspond à une plus forte abondance des hôtes intermédiaires de ces vers. Notre étude ayant été menée en automne et en hiver, elle ne reflète probablement pas ces fluctuations, alors que les retours des vétérinaires sur le terrain suggèrent une recrudescence de ces vers en fin d'été.

CONCLUSION

Cet observatoire a permis d'obtenir des résultats de prévalence importants car aucune donnée récente n'était disponible pour les élevages français. L'échantillon était assez faible et parfois déséquilibré pour faire des comparaisons entre élevages biologiques et non biologiques, mais il fournit des premiers résultats qui devront être consolidés par des études complémentaires afin d'enrichir les informations. Ainsi, les prévalences en fonction des régions et des saisons devront être mesurées afin d'établir une situation plus fine, ainsi que l'évolution des infestations dans des élevages suivis dans le temps. Néanmoins, la présence des nématodes dans les élevages de chair, et des nématodes et des cestodes dans les élevages de poules pondeuses, à durée de vie plus longue et donc à risque plus élevé, a été illustrée avec cet observatoire, et les prévalences sont supérieures à celles qui étaient supposées. La méthode de recherche utilisée, plus sensible que la coproscopie, est un atout pour détecter plus efficacement un plus grand nombre d'espèces d'helminthes, notamment les capillaires et les cestodes. Cependant, la mise en évidence des vers n'est pas toujours synonyme de problèmes dans les élevages concernés, le degré de gravité et l'impact des infestations sont dépendants des espèces et de la charge parasitaire associée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Répérant J.-M., Travel A., Dufay-Lefort A.-C., 2019, TeMa (51), 37-40
Répérant J.-M., Dufay-Lefort A.-C., Fleury V., 2020, Chaine You Tube ITAVI, https://www.youtube.com/watch?v=QU1rHIEZdVI, publié le 1/04/20.
Wuthijaree K., Lambertz C., Gauly M., 2017, Br. Poult. Sci., (58), 649-655
Jansson D. S., Nyman A., Vågsholm I., Christensson D., Göransson M., Fossum O. and Höglund J., 2010, Avian Pathol., (39), 525-532
Kaufmann F., Daş G., Sohnrey B., Gauly M., 2011, Livestock Science, (141), 182–187

Tableau 1. Genres d'helminthes identifiées en poulets de chair et nombre d'élevages atteints/nombre d'élevages testés

Production	Traitement	Cestodes	*Ascaridia*	*Heterakis*	*Capillaria*
12 biologique	non	0/6	2/6	1/6	0/6
	alternatif	0/6	2/6	1/6	0/6
28 Label ou plein air	non	0/3	3/3	0/3	0/3
	classique	0/25	5/25	6/25	0/25
TOTAL	40	0	12	8	0

Tableau 2. Genres d'helminthes identifiées en poules pondeuses et nombre d'élevages atteints/nombre d'élevages testés

Production	Traitement	*Raillietina*	*Choanotaenia*	*Davainea*	*Ascaridia*	*Heterakis*	*Capillaria*
26 Biologique	classique	6/11	0/11	0/11	7/11	7/11	0/11
	non	3/12	2/12	0/12	12/12	12/12	2/12
	alternatif	1/3	0/3	0/3	3/3	3/3	0/3
27 Label ou plein air	classique	11/26	0/26	2/26	16/26	21/26	2/26
	non	1/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1
1 Standard	classique	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
TOTAL	54	22	2	2	38	44	4

ETUDE IN VITRO SUR L'EFFET DE PHYTOACTIFS NON VOLATILS CONTRE *HISTOMONAS MELEAGRIDIS*

Carlu Claire[1], Girard Claire[1], Chabrillat Thibaut[1], Schuler David[2], Liebhart Dieter[2], Kerros Sylvain[1].

[1]Phytosynthese 63200 MOZAC
[2]Clinic for Poultry and Fish Medicine, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria.

claire.carlu@phytosynthese.fr

RÉSUMÉ

Histomonas meleagridis est le protozoaire responsable de l'histomonose. Cette maladie se traduit par des lésions d'inflammations des caecums et des foies chez les volailles. Depuis le retrait des spécialités telles que le dimétridazole en 2002 et le nifursol en 2003, les plantes font l'objet de recherche pour limiter son développement.

La présente étude vise à mesurer l'efficacité de 7 extraits végétaux (EV) riches en actifs non volatils sur *H. meleagridis* en comparaison à un noyau d'huiles essentielles (HE) actuellement sur le marché (ProtoPhyt).

Les EV ont été présélectionnés suite à une expérimentation in vitro sur le protozoaire *Trypanosoma brucei gambiense*. Les EV et HE ont d'abord été testés à 0,2 %, puis à 0,1% ; 0,05% ; 0,025% ou à 1,6% ; 0,8% ; 0,4% (10^5 *H. meleagridis*, incubation : 40°C) en comparaison du témoin négatif (eau distillée +1,5% lécithine de soja) et témoin positif (dimétridazole). Les cellules viables ont été comptées pour chaque échantillon à 24, 48 et 72h et la concentration minimale létale (CML) a été définie comme la concentration où aucune cellule vivante n'est observée après 24h. Un EV riche en sapogénine a présenté une CML plus faible que HE (0,025%). Une CML égale à celle de l'HE a été obtenue chez 2 EV (saponines ; lignanes). A la plus haute concentration testée (1,6%), 2 EV (limonoïdes ; tanins) n'ont pas montré de létalité mais une réduction significative supérieure à 90%. En complément, une susbtance (flavonoïdes) a permis 100% de létalité à une dilution inférieure à la CML entre 24 et 72h. Tous les actifs testés montrent une activité anti-*Histomona*s in vitro dans l'intervalle de concentration testé. Ces résultats doivent être adaptés à la concentration des plantes en phytoactifs.

Mots clés : histomonose, dindes, phytoactifs, huile essentielle

ABSTRACT

In Vitro study on the effect of non-volatile phytoactives against Histomonas meleagridis

Histomonas meleagridis is the protozoan responsible for histomonosis. This disease results in inflammatory lesions of the ceca and livers in poultry. Since the withdrawal of specialties such as dimetridazole in 2002 and nifursol in 2003, plants have been the subject of research to limit its development. The study aims to measure the efficiency of 7 plants extracts rich in non-volatile active ingredients (VE) on *H. meleagridis* in comparison with essential oils (EO), product currently on the market (ProtoPhyt).

VE were preselected following an *in vitro* experiment on the protozoan *Trypanosoma brucei gambiense*. VE and EO were tested at 0,2%, then at 0.1%; 0.05%; 0.025% or at 1.6%; 0.8%; 0.4% (10^5 *H.meleagridis*, incubation : 40°C) in comparison with negative control (distilled water+1,5% soy lecithin) and positive control (dimetridazole). Viable cells were counted for each sample at 24, 48 and 72h and the minimum lethal concentration (MLC) was defined as the concentration where no living cells are observed after 24h. One VE rich in sapogenine have lower (MLC) than EO (0.025%). An MLC similar to EO was obtained with 2 VE (saponins, lignans). At the highest concentration tested (1.6%), 2 VE (limonoids, tannins) did not show lethality but a significant reduction greater than 90%. In addition, one substance (flavonoids) allowed 100% lethality at a dilution lower than the MLC between 24 and 72h. All of the substances have anti-Histomonas activity *in vitro* in the concentration range tested. These results must be adapted to the concentration of the plants in phytoactives.

Key words: histomonosis, turkey, phytoactives, essentials oils

INTRODUCTION

Depuis l'arrêt du Nifursol en mars 2003, les traitements contre l'histomonose sont inexistants. A ce jour, la filière ne dispose plus de moyen de lutte officiel contre la maladie ; pourtant les conséquences économiques en élevage sont importantes. En effet cette maladie engendre des lésions des caecums et des foies chez les animaux avec des taux de mortalité élevés en particulier chez la dinde selon Hafez *et al*. (2006). Des conseils de conduite zootechnique ont alors été promulgués, et de nombreux programmes alimentaires proposent des additifs dont le but est de limiter la pression d'infestation de ce parasite. A cela, la nécessité d'une meilleure gestion du risque se présente afin de limiter l'impact de la maladie : des conditions d'hygiène strictes, une eau de qualité, une immunité renforcée sont nécessaires pour garder un environnement sain selon Callait-Cardinal *et al*. (2009). Aucune solution ne présente à ce jour de résultats significatifs lors de cas d'histomonose avéré avec mortalité. Quelques propositions commerciales ont vu le jour, notamment des solutions à base d'huiles essentielles, s'intégrant dans une stratégie de prévention. Des précédentes études ont pu révéler des effets des actifs végétaux sur d'autres protozoaires, c'est pourquoi nous continuons d'explorer leurs effets sur *H. meleagridis*. En considérant que si un extrait se révélait avoir une action même faible sur ce protozoaire, alors celui-ci serait un candidat intéressant à intégrer dans une démarche de prévention pour limiter les risques de développement. Les extraits végétaux (EV), riches en actifs non volatiles testés dans cette étude ont été présélectionnés suite à une expérimentation *in vitro* sur le protozoaire *Trypanosoma brucei gambiense*. Ces 7 EV ont été comparés à un noyau d'huiles essentielles actuellement présent sur le marché (ProtoPhyt).
L'objectif du projet était d'évaluer l'efficacité d'EV in vitro sur la croissance de *H. meleagridis*. Les EV ont été sélectionnés et fournis par Phytosynthese (Mozac). L'expérimentation a été menée à l'Université vétérinaire de Vienne.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Etudes préliminaires

Au préalable, une étude in vitro sur *Trypanosoma brucei gambiense* a été réalisée pour déterminer l'activité antiprotozoaire. Celle-ci a été réalisée en triplicat. Le paramètre étudié était la concentration exprimée en µg/ml permettant d'inhiber la croissance de 50% des parasites (IC50). La méthode d'évaluation de l'activité trypanocide a été développée par l'Université française Paris-Sud selon la méthode de Loiseau *et al*. (2000). Des extraits de plantes et huiles essentielles ont été testés dans cette étude préliminaire. Nous avons retenu les EV les plus efficaces (IC50 < 100 µg/ml) dont l'utilisation et le sourcing sont possibles pour l'alimentation animale en Europe.

1.2. Substances testées

Le tableau 1 énumère les 7 EV et le mélange d'huiles essentielles qui ont été mis en contact avec les cellules d'*Histomonas*. Pour le déroulement de l'étude les EV devaient être en solution aqueuse. L'ensemble des solutions mères a été préparé par Phytosynthese.
L'ensemble des extraits ont été dilués à 1/4 dans une solution d'eau distillé. Le mélange HE a été dilué dans une solution d'eau distillé et de lécithine de soja (1,5%). La lécithine de soja n'a pas entrainé de toxicité comme le montre le témoin négatif.

Toutes les substances ont été diluées et ajustées aux concentrations finales.

1.3. Culture

Des cellules monoxéniques d'*H. meleagridis,* ont été cultivées selon la méthode décrite par Grabensteiner *et al.* (2007). Elles ont été dénombrées et ajustées à une concentration de 10^E6 cellules par ml. La suspension précédente a été disposée dans plusieurs microtubes (100 µl) à une concentration de 10^E5 avec 800 µl de milieu de culture et 100 µl des différentes substances à tester.

Dans un premier temps, les 8 substances ont été testées à une concentration de 0,2% considérée comme dilution de référence. Dans un second temps, selon l'activité anti-*Histomonas* obtenue à cette concentration, 2 gammes de dilutions ont été utilisées : soit des dilutions plus basses (0,1% ; 0,05% ; 0,025%), soit des dilutions plus hautes (0,4% ; 0,8% ; 1,6%). Afin de démontrer l'effet sur *H. meleagridis*, le dimetridazole a été utilisé en tant que contrôle positif à 400 µg/ml, et l'eau distillée+1,5% de lécithine de soja en témoin négatif.

1.4. Comptage de cellules

Chaque échantillon a été coloré au bleu de trypan permettant de colorer les cellules mortes et ainsi d'identifier les cellules viables. La chambre de comptage de cellules Neubauer a permis de compter les cellules d'*H. meleagridis* viables après 24h.

La concentration minimale létale (CML) a été définie comme la plus petite concentration où aucune cellule vivante ou motile n'est observée après 24h d'incubation.

Un décompte des cellules d'*H. meleagridis* a été poursuivi à 48h et 72h.Les tests de sensibilité ont été effectués dans 3 expériences indépendantes et en triplicat.

1.5. Analyse statistique

Le test de Mann-Whitney U a été utilisé pour analyser les différences entre les groupes.

La p-value < 0,001 est considérée comme significative.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La figure 1 représente les résultats préalablement obtenus sur un screening sur *Trypanosoma brucei gambiense*. Le mélange d'huiles essentielles nécessitait 1,8µg/ml pour obtenir l'IC 50 et les 7 EV sélectionnés ont obtenu une IC 50 comprise entre 7 et 91 µg/ml.

Le tableau 2 ci-dessous présente les CML de chacune des substances testées. HE avait une CML de 0,4%, elle était supérieure à EV6 qui a permis de tuer les cellules de *H. meleagridis* à la concentration 0,025%. En effet, sa CML était de 0,025%. Les EV 2 et 7 avaient une CML équivalente à celle de HE. Les substances 3 et 5 n'avaient pas montré de létalité à la plus haute concentration testée (1,6%) après 24h mais ont permises une réduction significative des cellules viables.

Le tableau 3 présente la viabilité des cellules de *H. meleagridis* à 24, 48 et 72h après leur mise en contact avec les substances. Les résultats de létalité des cellules observées à 24h ont été confirmés à 48h et 72h pour HE, EV 2, EV 6 et EV 7. L'EV 3 n'obtenait aucune cellule viable à 1,6 % après 48h d'incubation, sans que cela ne se poursuive à 72h. On peut suggérer une anomalie lors de la manipulation à 48h ou éventuellement un développement des quelques cellules restantes. L'EV 4 provoquait la létalité des cellules à 0,8 % et 1,6 % à 48h et 72h d'incubation. A 24h, des cellules viables restaient présentes à 1,6 % mais pas à 0,8 %. Des études complémentaires doivent être menées pour connaître la concentration létale exacte de ces deux extraits végétaux sur les cellules du protozoaire.

Illustré en vert dans le tableau 2, on remarque qu'après 48h et 72h, les EV 1 et 7 ont éliminé l'ensemble des cellules à une dilution inférieure à leur CML (respectivement 0,8 % et 0,4 %) illustrant un effet temps de mise en contact de ces substances sur le protozoaire.

L'effet dose a été remarqué pour l'ensemble des actifs et mis en évidence sur la figure 1 ci-dessous. On observait une diminution des cellules viables lors de l'augmentation de la concentration en actifs pour chacune des substances. De même, on observe une augmentation des cellules viables de 24h à 72h, on peut supposer un effet limité dans le temps de ces extraits.

Les 7 substances présélectionnées sur *Trypanosoma brucei gambiense* ont toutes montré une activité anti-*Histomonas* à une concentration inférieure à 1,6% et 5 ont obtenu une CML entre 0.25 et 0,8 %. Cependant EV 6 semble plus efficace que HE sur *H. meleagridis* alors que *Trypanosoma brucei gambiense* était moins sensible à ces dernières.

CONCLUSION

Dans un contexte où il est difficile de maîtriser cette maladie, l'application de solutions à base d'actifs végétaux pourrait être un moyen de limiter son apparition. Dans cette étude, tous les actifs testés ont un impact direct sur la viabilité des cellules d'*H. meleagridis* ce qui pourrait confirmer une analogie d'actions de ces actifs sur les deux protozoaires trypanosome et *Histomonas*. Des études complémentaires seraient nécessaires pour mesurer le potentiel de ces actifs sur des volailles sous pression d'histomonose.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Callait-Cardinal M.P., Gilot-Fromont E., Chossat L., Gonthier A., Chauve C., Zenner L. Epidemiol. Infect. (2009) ; 138 : 353–363
- Hafez M., Hauck R. Archives of Animal Nutrition. 2006 ; 60 :5, 436-442,
- E. Grabensteiner, N. Arshad & M. Hess, Parasitol Res. 2007; 101 :193–199.
- Loiseau PM, LubertP., Wolf JG. Antimicrob. Agents Chemother. 2000 Nov ; 44(11) :2954-61.

Tableau 1. Liste des substances testées sur les cellules d'*Histomonas*

Nature	N°	Substances testées	
Huile essentielle (HE)		HE	ProtoPhyt™*, Phytosynthese
Extraits végétaux (EV)	1	Flavonoïdes	Extrait Propolis EPP-AF™, Apis Flora
	2	Lignanes	Extrait Laurier du Nordeste (*Ocotea* sp.)
	3	Tanins	Extrait Grenade (*Punica granatum*)
	4	Lactones	Extrait Chirette verte *(Andrographis paniculata)*
	5	Limonoïdes	Extrait Neem *(Azadirachta indica)*
	6	Sapogénine	Extrait PhytoGenine™, Phytosynthese
	7	Saponine	Extrait Petit houx, Phytosynthese

**TM : Trade mark*

Figure 1. Pré screening des extraits testés préalablement sur *Trypanosoma brucei gambiense* exprimé en IC50 (µg/ml) (retenus les actifs dont IC50 <100 µg/ml)

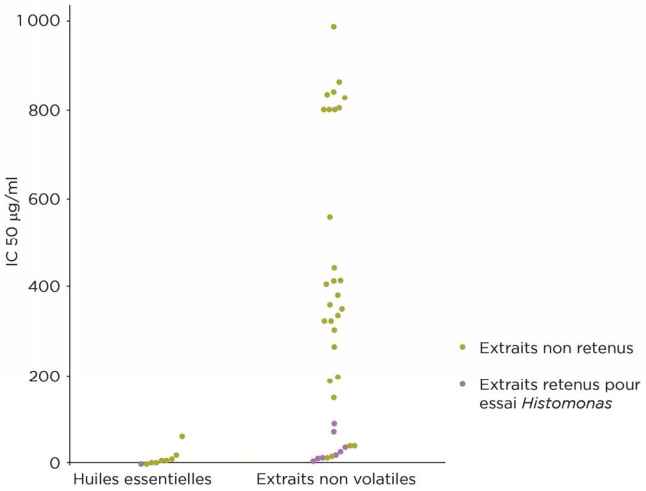


Figure 2 : Viabilité des cellules selon la concentration de chaque substance

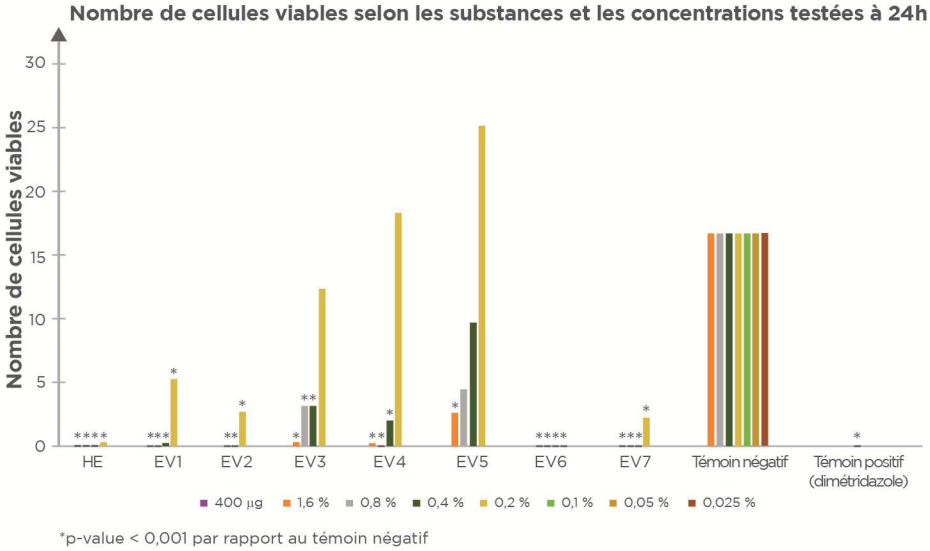


Tableau 2 : Nombre de cellules viables *H. meleagridis* à 24h selon les concentrations de chaque substance

	1,6%	0,8%	0,4%	0,2%	0,1%	0,05%	0,025%
HE	0	0	0	0,222			
EV1	0	0	0,111	5,222			
EV2		0	0	2,667			
EV3	0,222	3,111	3,111	12,333			
EV4	0,167	0	1,944	18,222			
EV5	2,556	4,389	9,611	25,111			
EV6				0	0	0	0
EV7	0	0	0	2,222			

CML

Tableau 3 : Nombre de cellules de *H.meleagridis* viables selon les substances testées et les différentes concentrations testées à 24h, 48h et 72h

Substances testées	Concentration	24h	48h	72h
HE	1,6 %	0	0	0
	0,8 %	0	0	0
	0,4 %	0	0	0
	0,2 %	0,222	0,111	0,056
EV1	1,6 %	0	0	0
	0,8 %	0	0	0
	0,4 %	0,111	0	0
	0,2 %	5,222	11,611	16,944
EV2	0,8 %	0	0	0
	0,4 %	0	0	0
	0,2 %	2,667	3,778	0,833
EV3	1,6 %	0,222	0	0,278
	0,8 %	3,111	2,389	3,056
	0,4 %	3,111	1,389	3,611
	0,2 %	12,333	18,833	25,778
EV4	1,6 %	0,167	0	0
	0,8 %	0	0	0
	0,4 %	1,944	3,111	7,111
	0,2 %	18,222	28,778	33,056
EV5	1,6 %	2,556	1,944	2,444
	0,8 %	4,389	11,389	48,667
	0,4 %	9,611	24,944	54,722
	0,2 %	25,111	39,389	54,278
EV6	0,2 %	0	0	0
	0,1 %	0	0	0
	0,05 %	0	0	0
	0,025 %	0	0	0
EV7	1,6 %	0	0	0
	0,8 %	0	0	0
	0,4 %	0	0	0
	0,2 %	2,222	0	0
Témoin négatif		16,667	21,806	31,222
Témoin positif (dimétridazole)	400 µg/ml	0	0	0

Létalité des cellules au cours du temps

EVALUATION DE L'EFFET DE PHYTOMOLECULES SUR LA CROISSANCE D'*HISTOMONAS MELEAGRIDIS* EN CONDITIONS *IN VITRO*

E. N'guetta, K. Vermeulen, R. Neto, V. Van Hamme, A. Wealleans

KEMIN EUROPA NV - Toekomstlaan 42 - 2200 HERENTALS BELGIQUE

eric.nguetta@kemin.com

RÉSUMÉ

L'histomonose est une maladie infectieuse réémergente au sein de l'Union Européenne depuis l'interdiction progressive des molécules permettant de la prévenir ou de la traiter de manière efficace telles que le dimetridazole. L'histomonose peut toucher plusieurs espèces aviaires mais les dindes y sont particulièrement sensibles. En élevage de dindes, l'histomonose se manifeste en premier lieu par la présence de lésions hépatiques et caecales qui peuvent être associées à une forte mortalité, ce qui en fait un enjeu économique majeur. L'agent pathogène de l'histomonose est *Histomonas meleagridis*, un protozoaire parasite obligatoire des oiseaux galliformes. L'objectif de cette étude était de comparer, en conditions *in vitro*, l'effet d'un mélange de phytomolécules (cinnamaldéhyde, terpènes d'orange, thymol, eugénol, carvacrol, oléorésine de capsicum) utilisé seul ou avec un ajout d'acides organiques à celui de l'huile d'origan sur la croissance d'*H. meleagridis*. Des prélèvements de 10^5 cellules d'*H. meleagridis* issus d'une culture monoxénique réalisée en présence d'*E. coli* ont été incubés dans des microtubes à 40°C pendant l'étude. Le contrôle positif a été réalisé en présence de dimetridazole (DZ) à une concentration finale de 400 µg/ml tandis que le contrôle négatif (CN) contenait uniquement le milieu de culture. Le mélange de phytomolécules ajouté seul (PM) ou en combinaison avec des acides organiques (PM+AO), ainsi que l'huile d'origan (HO) ont été ajoutés à une concentration finale de 0,2%. Pour chaque condition expérimentale, des comptages cellulaires ont été réalisés après 24h, 48h et 72h d'incubation. Les différences significatives ont été analysées avec le test de Kruskal Wallis (seuil P=0,05). Les meilleurs résultats ont été obtenus en présence du dimetridazole et en présence des mélanges d'actifs PM et PM+AO. Ces traitements ont permis d'inhiber la croissance *d'H. meleagridis* (P<0,05). L'huile d'origan n'a pas eu d'effet inhibiteur et a uniquement permis une réduction numérique de la croissance du protozoaire. Ces résultats suggèrent que les phytomolécules pourraient contribuer aux stratégies de lutte contre l'histomonose. Des études complémentaires sont nécessaires afin d'évaluer l'effet *in vivo* de ces ingrédients.

ABSTRACT
Evaluation of the effect of phytomolecules on the *in vitro* growth of *Histomonas meleagridis*

Histomonosis has re-emerged in the EU since the drugs previously used to prevent or treat it effectively such as dimetridazole were phased out. Several domestic avian species can be affected by histomonosis but turkeys are particularly susceptible. The economic consequences of this disease can be significant in turkey production due to the high mortality levels it can potentially cause. The etiological agent of histomonosis is *Histomonas meleagridis*, an obligate protozoan parasite that causes hepatic and caecal lesions in infected galliform birds. The aim of this study was to compare the effect of mixtures of phytochemicals (cinnamaldehyde, orange terpenes, thymol, eugenol, carvacrol, capsicum oleoresin) used alone or in combination with organic acids to that of oregano oil on the *in vitro* growth of *H. meleagridis*. 10^5 cells of *H. meleagridis* were sampled from a monoxenic culture supplemented with *E. coli* and incubated in microtubes at 40°C. Dimetridazole was added at 400 µg/ml for the positive control (DZ) and the negative control (CN) contained only growth medium. The mixture of phytochemicals tested alone (PM) or in combination with organic acids (PM+AO) and oregano oil (HO) were added at a concentration of 0.2%. Cell counts were performed after 24h, 48h and 72h of incubation. A Kruskall Wallis test was used for the statistical analysis (alpha level=0.05). The mixtures of phytochemicals PM, PM+AO and dimetridazole inhibited the growth of *H. meleagridis* (P<0.05). Oregano oil did not have a similar inhibitory effect but numerically reduced the growth of the parasite. Further studies are needed to evaluate the *in vivo* effect of these ingredients.

INTRODUCTION

L'histomonose (ou maladie de la tête noire) est une maladie parasitaire des volailles dont l'agent étiologique est le protozoaire *H. meleagridis* (McDougald, 2005). Il s'agit d'une maladie entérique qui affecte en particulier les dindes. Elle peut provoquer des niveaux de mortalités variables chez ces dernières et entrainer des pertes allant de 10% à 100 % des troupeaux (Callait-Cardinal et al., 2007). L'histomonose peut aussi se manifester chez d'autres espèces aviaires telles que les poules pondeuses ou les poules reproductrices en entraînant des chutes de ponte (Liebhart et al., 2013, Dolka et al., 2015). Bien que moins souvent affectées en comparaison aux dindes, ces espèces peuvent jouer un rôle important de réservoir du fait d'un portage asymptomatique, mais aussi par le biais d'une excrétion élevée d'œufs du ver *Heterakis gallinarum* (Liebhart et Hess, 2020), un hôte intermédiaire dans la transmission du parasite (Springer et al., 1969). De plus, l'histomonose peut être aggravée par la coccidiose caecale (due à *Eimeria tenella*) ou par les infections colibacillaires (McDougald et Hu 2001, Popp et al., 2011). D'un point de vue clinique, c'est une maladie qui se traduit le plus souvent, chez les animaux affectés, par la présence d'une diarrhée jaune soufre associée à des lésions caecales et qui peut conduire à une apathie. Chez les dindes, des lésions hépatiques sont fréquemment présentes en cas de migration vers le foie (Liebhart et Hess, 2020).

Historiquement, les approches thérapeutiques utilisées pour prévenir et traiter l'histomonose ont essentiellement reposé sur l'utilisation du dimetridazole, une molécule de nos jours interdite à cause de sa potentielle cancérogénicité (Ré et al., 1997). D'autres solutions telles que la nitarsone, un composé arsenical, ou le nifursol ont également été retirées du marché dans les différentes régions où elles étaient auparavant disponibles (Clark et Kimminau, 2017). Dans certains pays tels que la France, l'interdiction ou le retrait de ces molécules s'est suivie d'une réémergence des cas d'histomonose (Callait-Cardinal et al., 2007). A ce jour, il n'existe plus de traitement curatif contre *H. meleagridis* au sein de l'Union Européenne et la prophylaxie repose principalement sur l'utilisation de vermifuges en vue de limiter la transmission d'*H. gallinarum* (vecteur du parasite), ainsi que sur l'ensemble des mesures de séparation des espèces.

Dans l'optique d'une recherche de solutions alternatives, plusieurs approches reposant sur l'utilisation d'actifs d'origine végétale ont donné des résultats prometteurs (Liebhart et al., 2017), mais leur potentiel reste à définir. Nous avons par conséquent investigué, *in vitro,* l'effet d'un mélange de phytomolécules avec ou sans ajout d'acides organiques ainsi que celui de l'huile d'origan sur la croissance d'*H. meleagridis*, afin de déterminer si cette stratégie pouvait présenter un intérêt dans la lutte contre l'histomonose.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Culture d'*H. meleagridis*

Une culture monoxénique d'*H. meleagridis* (*H. meleagridis*/ Turkey/ Austria/ 2922/ C6) enrichie avec une souche d'*E. coli* afin d'assurer la viabilité du parasite a été utilisée pour la réalisation de l'étude. Les tests ont été faits dans des microtubes contenant 800 µl de milieu de culture frais composé de 85% de milieu 199 (M199; Gibco™, Invitrogen, Lofer, Autriche), de 2 mg/ml d'amidon de riz (Sigma-Aldrich) et de 15% de sérum de veau fœtal (Gibco™, Invitrogen). Les cultures d'*H. meleagridis* ont ensuite été ajustées pour avoir une concentration de 10^6 cellules par ml par des dilutions successives. Un prélèvement de 100 µl contenant 10^5 parasites a été ajouté à chaque microtube contenant 800 µl de milieu frais, ainsi que 100 µl de préparation de phytomolécules à tester. Les cultures ont été incubées à 40°C. Pour chaque condition expérimentale, les tests ont été faits en trois répétitions indépendantes, chacune d'entre elle ayant été réalisée en triplicat.

1.2. Préparation des phytomolécules et inoculation des cultures

Trois produits ont été évalués dans cette étude. Un premier mélange de phytomolécules (PM) a été préparé à partir des ingrédients du RepaXOL™ (Kemin Industries), qui est une préparation doublement microencapsulée contenant 22% de phytomolécules (cinnamaldéhyde, de terpènes d'orange, de thymol, d'eugénol, de carvacrol et d'oléorésine de capsicum). Un second mélange (PM+AO) a été préparé en réduisant de moitié la quantité des ingrédients de la préparation PM et en ajoutant de l'acide citrique et de formate de calcium à la préparation. Les phytomolécules des préparations PM et PM+AO ont été dissoutes dans du Tween 80. Un troisième produit constitué d'huile d'origan contenant 12% de phytomolécules a été utilisé (Dosto Oregano, Dovital). Les produits expérimentaux ci-dessus ont été évalués à une concentration finale de 0.2%.

Le dimetridazole (Sigma Aldrich, Vienne, Autriche) a été utilisé comme contrôle positif à une concentration finale de 400 µg/ml.

1.2. Comptages des cellules d'*H. meleagridis* et analyse statistique

Le comptage des cellules d'*H. meleagridis* a été effectué après 24, 48 et 72h d'incubation. Pour ce

faire, chaque échantillon a été marqué avec une coloration au bleu de trypan (0,4%) (Gibco™, Invitrogen, Lofer, Autriche). La numération été faite avec une cellule de Neubauer (hématimètre Bright-Line™; Hausser Scientific, Horsham, Pennsylvanie, USA, fourni par Sigma-Aldrich, Vienne, Autriche). Le cas échéant, la confirmation de l'élimination totale du parasite a été effectuée en inoculant les suspensions cellulaires dans un milieu de culture frais ne contenant aucun produit expérimental. L'analyse statistique des résultats a été faite à l'aide du test de Kruskal Wallis. En cas de différence significative (P<0,05), le test post hoc de Conover-Iman a été réalisé.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette étude, les préparations de phytomolécules ont montré un effet inhibiteur sur la croissance de la souche d'*H. meleagridis* évaluée en conditions *in vitro* (Figure 1).

Le mélange de phytomolécules PM a inhibé la croissance d'*H. meleagridis* dès 24 heures d'incubation en comparaison au groupe contrôle (P<0,0001). L'inhibition du parasite s'est confirmée après 48 heures et 72 heures d'incubation. Des résultats similaires ont été obtenus avec le mélange PM+AO, auquel a été ajouté de l'acide citrique et du formate de calcium (P<0,0001). Pour ce dernier, une très faible croissance a été observée après 72h d'incubation. Celle-ci pourrait être expliquée par le manque de stabilité dans le temps des phytomolécules après leur mise en solution. Une observation notable a été que l'ensemble des résultats obtenus avec les préparations PM et PM+AO ont été comparables au dimetridazole, qui a de la même manière entièrement inhibé la croissance du parasite après 24, 48 et 72 heures d'incubation (P<0,0001). Après l'ajout de ces différentes préparations, aucune reprise de croissance n'a pu être observée en réinoculant les suspensions cellulaires dans des milieux de culture frais. L'huile d'origan n'a pas eu d'effet inhibiteur significatif sur le parasite. L'absence d'effet du Tween 80, utilisé pour la préparation des mélanges de phytomolécules, a été vérifiée. Les différentes préparations n'ont pas eu d'effet significatif sur la croissance d'*E. coli* (données non présentées), ce qui suggère un effet direct contre *H. meleagridis*.

Cette étude confirme les résultats préalablement obtenus avec le RepaXOL™ contre *H. meleagridis*. Dans leur étude, Hauck et Hafez (2007) ont observé un effet létal avec cet ingrédient en conditions *in vitro* au bout de 24 heures d'incubation, à une dilution de 1,25 µl/ml (0,125%). Si de nombreuses études décrivent les propriétés antibactériennes et antioxydantes des phytomolécules telles que le cinnamaldéhyde, les terpènes d'oranges, le thymol, l'eugénol, le carvacrol et d'oléorésine de capsicum (Doyle et al., 2019, Calo et al., 2015, Miguel 2010), il est intéressant de noter que certaines d'entre elles possèdent aussi une activité antiparasitaire (Anthony et al., 2005). Ainsi, l'activité histomonocide d'huiles essentielles principalement composées de cinnamaldéhyde et de limonène, un hydrocarbure terpénique des agrumes, a été observée *in vitro* sur *Tetratrichomonas gallinarum* et *H. meleagridis* (Zenner et al., 2003). Dans la présente étude, l'effet histomonocide a été plus important avec les préparations PM et PM+AO en comparaison à l'huile d'origan, dont les constituants majoritaires sont le carvacrol et de thymol (Lu et al. 2018). Il aurait toutefois été intéressant d'évaluer l'effet de d'origan utilisée dans cette étude à une dilution plus élevée, du fait de sa plus faible concentration en phytomolécules que celle des autres préparations. Le mode d'action de ces ingrédients pourrait être lié à des perturbations membranaires et à des modifications de la régulation osmotique du parasite (Anthony, 2008).

Cependant, la validation *in vivo* de ces résultats pourrait être un défi, notamment du fait de la localisation préférentielle du parasite au niveau des caeca. Cette particularité évoque la question de la stabilité des phytomolécules considérées le long du tractus digestif suite à leur administration orale, de manière à ce qu'ils puissent atteindre *H. meleagridis* où il réside préférentiellement. A cet égard, l'encapsulation dans une matrice protectrice permettant une libération contrôlée pourrait améliorer les chances de réussite *in vivo*.

En conditions *in vivo*, les co-infections par *E. coli* et *H. meleagridis* ne sont pas rares. Dans leur étude menée sur des poules pondeuses, Abdelhamid et ses collaborateurs (2020) ont montré que celles-ci peuvent accentuer la baisse de gain de poids et la sévérité des lésions caecales. Une autre conséquence des co-infections a été la diminution de l'abondance et de la diversité de la flore bactérienne caecale au profit des colibacilles pathogènes. Ces observations suggèrent que les stratégies de gestion de la flore caecale peuvent avoir un rôle dans la lutte contre le parasite.

Par ailleurs, *H. meleagridis* pourrait bénéficier de ses interactions avec *E. coli* pour la régulation de son environnement, sa protection contre le stress oxydant, ou encore son approvisionnement en nutriments (Bilic et Hess, 2020). Il a aussi été démontré qu'*E. coli* supporte fortement la croissance du parasite en conditions *in vitro* (Ganas et al., 2012). A ce titre, les solutions de lutte contre l'histomonose favorisant la gestion simultanée de ces deux pathogènes pourraient avoir un intérêt particulier. Il est probable que l'effet histomonocide observé avec PM+AO provienne principalement de l'action des phytomolécules, mais leur association avec des solutions pouvant avoir un

effet contre *E. coli* pourrait être pertinente dans la gestion conjointe des deux pathogènes. En conditions *in vivo*, Paul et al. (2010) ont montré qu'ajoutés à 3 kg/t d'aliment, les sels d'acide formique peuvent significativement réduire la quantité de colibacilles dans le contenu intestinal et améliorer l'indice de consommation. Des études complémentaires sont nécessaires afin de déterminer dans quelle mesure la limitation des interactions parasite-bactérie, notamment avec *E. coli*, pourraient contribuer aux stratégies de lutte contre l'histomonose.

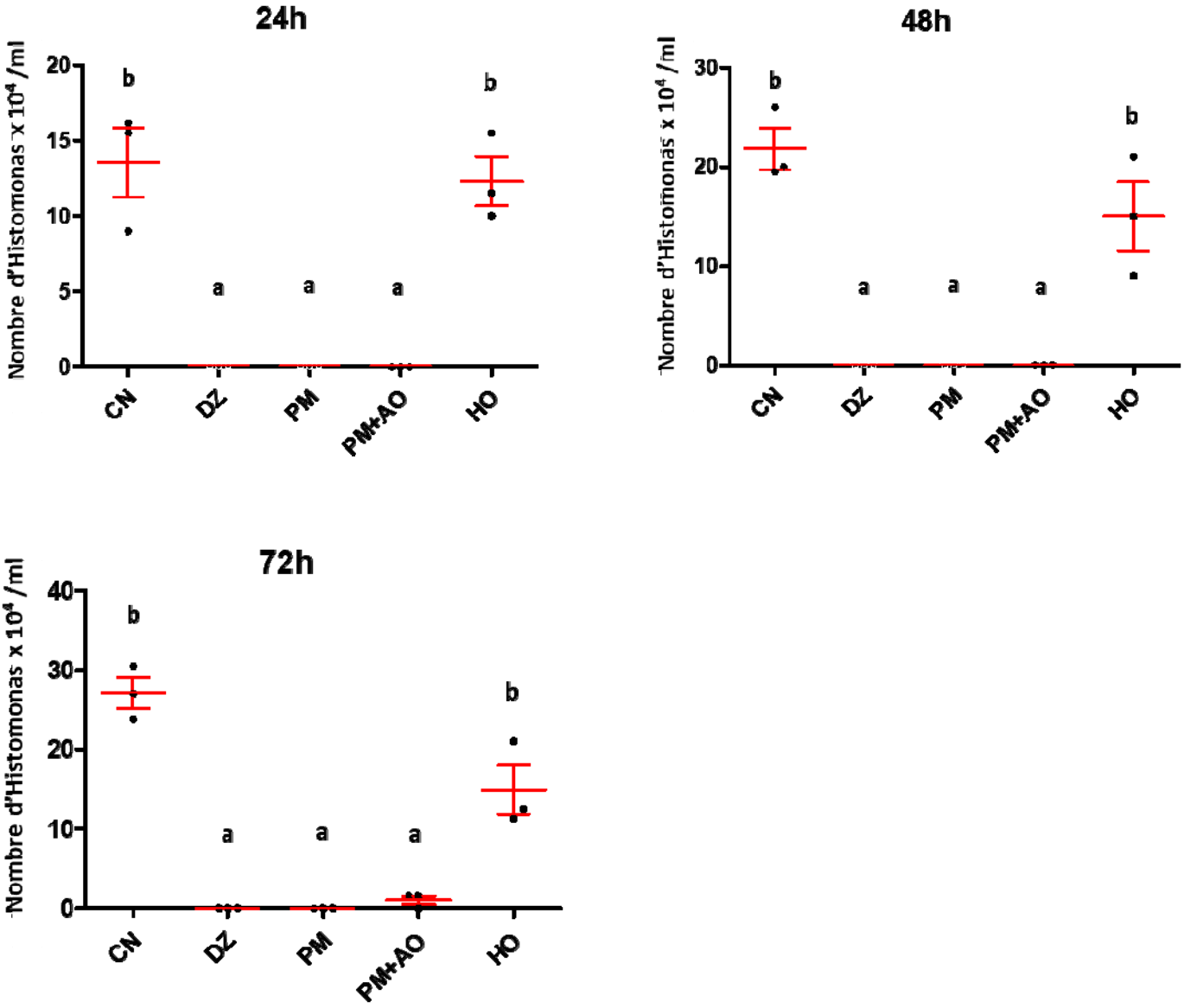
CONCLUSION

Les résultats de cette étude indiquent que les mélanges de phytomolécules évalués (RepaXOL^{TM}) ont un effet inhibiteur sur la croissance de *H. meleagridis* en conditions *in vitro* dès 24h d'incubation. Ces ingrédients pourraient constituer des solutions alternatives d'intérêt pour une meilleure gestion de l'histomonose. Des études complémentaires sont cependant nécessaires pour la validation de ces résultats chez la dinde. En outre, l'association des phytomolécules avec d'autres ingrédients d'intérêt pourrait être une stratégie d'avenir pour la gestion des co-infections colibacillaires et de leurs conséquences sur la flore microbienne.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdelhamid, M. K., Quijada, N. M., Dzieciol, M., Hatfaludi, T., Bilic, I., Selberherr, E., ... & Paudel, S., 2020. Frontiers in microbiology, 11.
Anthony, J. P., Fyfe, L., & Smith, H., 2005. Trends in parasitology, 21(10), 462-468.
Anthony, J. P., 2008. Thèse de doctorat, Queen Margaret University.
Bilic, I., & Hess, M., 2020. Trends in parasitology, 36(3), 232-235.
Callait-Cardinal, M. P., Leroux, S., Venereau, E., Chauve, C. M., Le Pottier, G., & Zenner, L., 2007. Veterinary Record, 161(17), 581-585.
Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., & Ricke, S. C., 2015. Food control, 54, 111-119.
Clark, S., & Kimminau, E., 2017. Avian Diseases, 61(3), 281-288.
Dolka, B., Żbikowski, A., Dolka, I., & Szeleszczuk, P., 2015. Veterinary Research Communications, 39(3), 189-195.
Doyle, A. A., & Stephens, J. C., 2019. Fitoterapia, 139, 104405.
Ganas, P., Liebhart, D., Glösmann, M., Hess, C., & Hess, M., 2012. International journal for parasitology, 42(10), 893-901.
Hauck, R., & Hafez, H. M., 2007. Avian diseases, 51(4), 880-883.
Hauck, R. & Hafez, H.M., 2013. Parasitology Research, 112, 19–34
Liebhart, D., Ganas, P., Sulejmanovic, T., & Hess, M., 2017. Avian Pathology, 46(1), 1-18.
Liebhart, D., & Hess, M., 2020. Avian Pathology, 49(1), 1-4.
Liebhart, D., Sulejmanovic, T., Grafl, B., Tichy, A. & Hess, M., 2013. Avian Pathology, 42, 79–84.
Lu, M., Dai, T., Murray, C. K., & Wu, M. X., 2018. Frontiers in microbiology, 9, 2329.
McDougald, L. R., 2005. Avian diseases, 49(4), 462-476.
McDougald, L. R., & Hu, J., 2001. Avian Diseases, 307-312.
Miguel, M. G., 2010. Molecules, 15(12), 9252-9287.
Paul, S. K., Halder, G., Mondal, M. K., & Samanta, G., 2007. The Journal of Poultry Science, 44(4), 389-395.
Popp, C., Hauck, R., Balczulat, S., & Hafez, H. M., 2011. Avian diseases, 55(2), 328-330.
Ré, J. L., De Méo, M. P., Laget, M., Guiraud, H., Castegnaro, M., Vanelle, P., & Duménil, G., 1997. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 375(2), 147-155.
Springer, W. T., Johnson, J., & Reid, W. M., 1969. Parasitology, 59(2), 401-405.
Zenner, L., Callait, M. P., Granier, C., & Chauve, C., 2003. Parasite, 10(2), 153-157.

Figure 1. Effet du dimetridazole (DZ), du mélange de phytomolécules ajouté seul (PM) ou en combinaison avec des acides organiques (PM+AO) et de l'huile d'origan (HO) sur la croissance d'*H. meleagridis* au bout de 24h, 48h et 72h d'incubation en comparaison au contrôle (CN). Les lettres (a, b) différentes indiquent des différences significatives à $P<0,05$.





Evaluation de l'effet de phytomolécules sur la croissance d'*Histomonas meleagridis* en conditions *in vitro*

E. N'guetta, K. Vermeulen, R. Neto, V. Van Hamme, A. Wealleans

KEMIN Europa NV - Toekomstlaan 42 - 2200 Herentals Belgique - eric.nguetta@kemin.com

Introduction

L'histomonose est une maladie parasitaire des volailles dont l'agent étiologique est le protozoaire *H. meleagridis*. Elle affecte particulièrement les dindes et réémerge au sein de l'Union Européenne depuis l'interdiction progressive des molécules permettant de la prévenir ou de la traiter de manière efficace, telles que le dimetridazole. L'objectif de cette étude était d'investiguer, *in vitro*, l'effet d'un mélange de phytomolécules avec ou sans ajout d'acides organiques ainsi que celui de l'huile d'origan sur la croissance d'*H. meleagridis*.

Matériels et méthodes

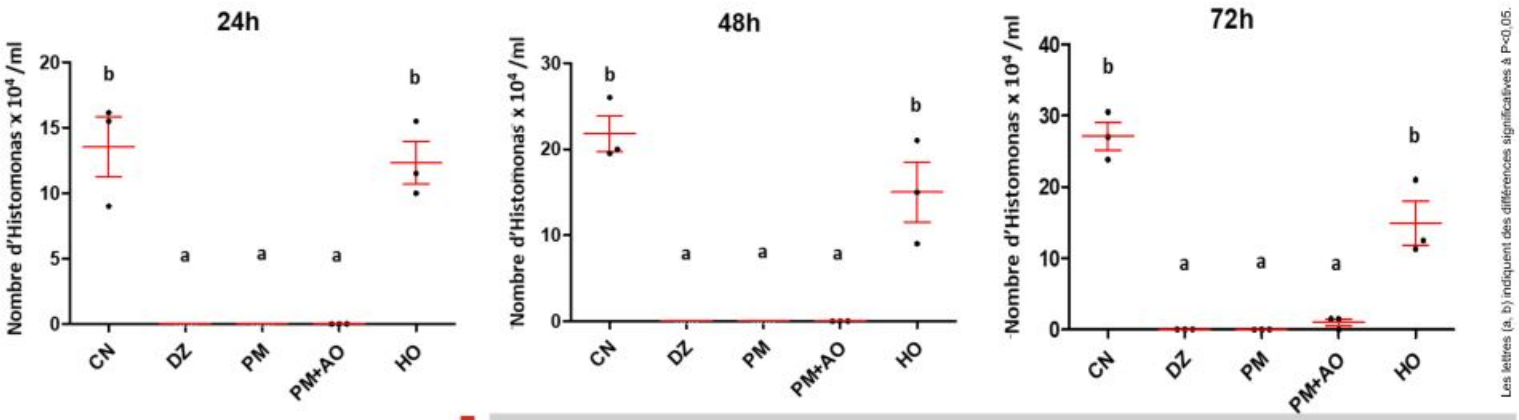
10^5 parasites ont été incubés à 40°C (milieu à base de M199, Gibco™, Invitrogen). Trois préparations de phytomolécules ont été évaluées à une dilution finale de 0.2%, en triplicat:

- PM: préparé à partir des ingrédients du RepaXOL™ (Kemin Industries)
- PM+AO: préparé en réduisant de moitié la quantité de phytomolécules contenue dans PM et en ajoutant de l'acide citrique et de formate de calcium à la préparation.
- Huile d'origan (12% de phytomolécules, Dosto Oregano, Dovital).
- Contrôle négatif (CN) : aucun produit expérimental. Contrôle positif: dimetridazole (DZ) ajouté à 400 µg/ml.
- Comptages d'*H. Meleagridis* à 24, 48 et 72h d'incubation en cellule de Neubauer après coloration au bleu de trypan.
- Analyse statistique: test de Kruskal Wallis. En cas de différence significative (P<0,05), un test post hoc de Conover-Iman a été réalisé.

Résultats

Les mélange de phytomolécules PM et PM+AO ont inhibé la croissance d'*H. meleagridis* après 24, 48 et 72 heures d'incubation en comparaison au contrôle négatif (*P*<0,0001). Pour PM+AO, une faible croissance a été observée après 72h d'incubation. Celle-ci pourrait être expliquée par un manque de stabilité des phytomolécules après leur mise en solution. L'ensemble des résultats obtenus avec PM et PM+AO ont été comparables au dimetridazole, qui a également entièrement inhibé la croissance du parasite après 24, 48 et 72 heures d'incubation (*P*<0,0001).

Figure: Effet du dimetridazole (DZ), du mélange de phytomolécules ajouté seul (PM) ou en combinaison avec des acides organiques (PM+AO) et de l'huile d'origan (HO) sur la croissance d'*H. meleagridis*.



CONCLUSION

Les mélanges de phytomolécules évalués (RepaXOL™) ont un effet inhibiteur sur la croissance d'*H. meleagridis* en conditions *in vitro* dès 24h d'incubation. Des études complémentaires sont nécessaires pour la validation de ces résultats chez la dinde. En outre, l'association des phytomolécules avec d'autres ingrédients à visée antibactérienne pourrait être une stratégie d'avenir pour la gestion des co-infections colibacillaires et de leurs conséquences sur la flore microbienne.

WANT TO KNOW MORE?
SCAN THE QR CODE TO
DOWNLOAD THE POSTER

KEMIN INTESTINAL HEALTH

14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 2022

© Kemin Industries, Inc. and its group of companies 2022. All rights reserved. ® ™ Trademarks of Kemin Industries, Inc., U.S.A.
Certain statements, product labeling and claims may differ by geography or as required by government requirements.

INTERET DE L'AUTOVACCIN *ORNITHOBACTERIUM RHINOTRACHEALE* EN PRODUCTION DE DINDE SUR LES PERFORMANCES :

Etude comparative des indicateurs technico-économiques et d'usage des antibiotiques des lots vaccinés et non vaccinés

MELLAL Mokrane [1], BABIN Charley[2]

[1] VET&SPHERE – Réseau Cristal, ZI de Tirpen, 56140 Malestroit, France

[2]Fili@vet – Réseau Cristal, 7 Rue des Artisans, 79300 Bressuire, France

m.mellal@reseaucristal.fr

RÉSUMÉ

La production de dinde de chair a besoin, plus que jamais de solutions alternatives et de démédication. Cette production est confrontée à des infections à *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) qui sont à l'origine de troubles respiratoires ou articulaires avec un impact sur les performances technico-économiques nécessitant le recours à l'antibiothérapie d'une façon significative. En absence de vaccin commercial pour cette pathologie, l'autovaccin est la seule solution alternative efficace proposée de nos jours aux producteurs de dindes. Mais le recours à cette solution n'est pas systématique pour diverses raisons et obstacles. Afin de démontrer l'intérêt économique et technique de la mise en place d'un autovaccin, ainsi que la diminution d'antibiothérapie, les vétérinaires CRISTAL ont mené une étude rétrospective sur les élevages ayant eu recours à cette pratique après des épisodes d'ORT marqués. Pour cela, nous avons comparé pour chaque élevage les deux lots précédents la mise en place de l'auto-vaccin avec les deux premiers lots auto-vaccinés. Des données de prescription pour chaque lot ont été collectées afin de calculer des indicateurs d'usage des antibiotiques, ainsi que les données d'élevage et d'abattage pour avoir une approche économique. Les résultats sont nettement en faveur des lots avec l'autovaccin. Par exemple, le nombre de traitements moyen, diminue de 2,2 pour les lots sans auto-vaccin à 0,9 pour les lots avec autovaccins, et l'ALEA de 2,05 à 0,8. Des outils de communication en faveur de cette solution préventive ont été construits à l'issue de cette étude pour accompagner les éleveurs dans leur choix.

ABSTRACT

Value of an autogenous vaccine against Ornithobacterium rhinotracheale in turkey broilers on technical performances and antibiotic reduction.

Nowadays, more than ever, turkey broilers production needs more alternatives to antibiotics and demedication. *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) infections are common in turkey broilers production with an impact on technical-economic performance requiring significant use of antibiotics. In France, there are not a commercial vaccine for ORT and the only efficiency solution offered today to turkey producers are the autogenous vaccines. But this solution still for the moment not systematically used for various reasons and obstacles that we want to overcome through this study.

And in the logic to promote ORT autogenous vaccines in turkey broilers production, a group of veterinarians RESEAU CRISTAL conducted this comparative study based on economic and antibiotic exposure indicators of two groups of turkey flocks, without autogenous vaccines (N=20) and with autogenous vaccines (N=20). We collected the antibiotic prescription data for each flock to calculate indicators of exposure to antibiotics, farm and slaughter data for have one economic approach. The results of this study and the market expectations tip the balance of the comparison in favor of the group of flocks having received the autogenous vaccines. For example, for the number of treatments, we reduce from 2,2 for flocks wthout autogenous vaccines to 0,9 for flocks with autogenous vaccines, and the ALEA from 2,05 to 0,8. This allowed us to build relevant communication tools in favor of this alternative solution as a means, of essential demedication for the meat turkey sector.

INTRODUCTION

Depuis la découverte du premier cas clinique dû à *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) en 1993 (Charlton *et al.*), cette pathologie ne cesse de prendre de l'importance dans les élevages de dindes de chair. En France, elle se présente majoritairement sous la forme de troubles respiratoires et/ou articulaires.

Elle est très redoutée par les éleveurs, car elle peut être à l'origine d'importantes pertes économiques par de la mortalité, la baisse de performance, les surcoûts de médication et les retraits à l'abattoir.

De plus, l'ORT est la deuxième cause de pathologie diagnostiquée dans les élevages de dinde de chair nécessitant des traitements antibiotiques selon les résultats statistiques des laboratoires RESALAB du « Groupe Cristal », après la colibacillose (données internes non publiées).

Dans le contexte de la réduction de l'usage des antibiotiques de la filière dinde de chair, et en l'absence de vaccin commercial à ce jour en France, la mesure préventive proposée aux éleveurs contre cette pathologie est la mise en place d'un autovaccin. Cela consiste à injecter aux jeunes animaux de 4 semaines un vaccin préparé à partir de la bactérie isolée sur des lots précédemment atteints d'ORT du même élevage.

Cette solution, qui s'inscrit dans la démarche ALTERBIOTIQUE® du Groupe Cristal est encouragée dans le plan EcoAntibio 2012- 2017 comme moyen de lutte contre l'antibiorésistance dans les espèces mineures dont la dinde (Axe (agriculture.gouv.fr) - 2012).

Cette étude menée par les Vétérinaires Cristal en collaboration avec Ceva Biovac a pour but de démontrer l'impact positif de l'autovaccin ORT en dinde de chair, son intérêt technico-économique et ainsi promouvoir cette solution préventive et alternative aux antibiotiques.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Contexte de l'étude :

Cette étude réalisée en janvier 2019 est une analyse rétrospective des données technico-économiques et d'usage des antibiotiques de 10 élevages localisés dans les bassins de production de dindes de chair du Grand-Ouest. Pour chacun des élevages sélectionnés, les données sont collectées sur 4 lots : 2 lots avant la mise en place de l'autovaccin, et 2 lots suivant la mise en place de l'autovaccin. Nous comparons alors 20 lots de dindes sans autovaccins et 20 lots avec autovaccins des mêmes élevages. **1.2. Critère d'inclusion des élevages :**

Les élevages sélectionnés devaient avoir des traitements antibiotiques contre l'ORT sur 2 lots au minimum avant d'avoir réalisé à suivre 2 lots avec un autovaccin ORT fabriqué par Ceva Biovac, injecté aux mâles et aux femelles, et devaient disposer de toutes les données d'analyse, de médication ainsi que les résultats technico-économiques.

1.3. Données collectées :

Pour chaque élevage, les données collectées concernent les analyses de laboratoire (autopsie, bactériologie et diagnostic), les traitements antibiotiques mis en place pour chaque lot avec le détail de chaque prescription à visée ORT et pathologies concomitantes ou de surinfections (molécules et posologies, biomasse traitée, âge et durée de traitement, nombre d'animaux traités), les résultats technico-économiques GTE et les résultats d'abattage (poids, âges d'abattage, indice de consommation, mortalité, marge dindonneau aliment). La mortalité de démarrage, avant 10 jours, n'est pas prise en compte, ainsi que les traitements réalisés avant 4 semaines (les infections à ORT n'interviennent pas avant). Sont intégrés aussi dans cette étude, les coûts moyens des traitements antibiotiques et le coût moyen des autovaccins ORT (fabrication et administration).

Pour chaque indicateur, les moyennes des 2 groupes sont comparées, lots autovaccinés ORT (AV) aux lots non autovaccinés (NAV).

1.4. Analyse des données :

Les données collectées ont permis de retenir deux types d'indicateurs d'usage des antibiotiques afin de comparer les moyennes des 2 groupes :

***Indicateurs relevés (constatés)* :**

Nombre de jours de traitement antibiotique à visée ORT, à visée pathogènes de surinfections essentiellement *Escherichia coli*, nombre de jours de traitement avec antibiotiques critiques.

***Indicateurs calculés (Annexe1)* :**

Nombre de jours de traitement réel et par spécialités, ALEA (Animal Level Exposure to Antimicrobials, qui est l'indicateur retenu pour qualifier l'exposition aux antibiotiques par le plan EcoAntibio).

L'ALEA a été calculé pour toutes les spécialités antibiotiques (Annexe 1) (rapport annuel ANSES-ANMV, 2015) à visée ORT et pathologies concomitantes ou de surinfections (*Escherichia coli* principalement).

Analyse statistique des données :

L'analyse statistique des moyennes des 2 groupes est réalisée avec le logiciel R (tests ANOVA et de KRUSKAL-WALLIS).

Les indicateurs économiques calculés (Annexe1) ont permis de démontrer le retour sur investissement

global de la mise en place d'un autovaccin et son impact sur l'ALEA et sur l'ensemble des indicateurs en relation avec l'antibiothérapie.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Traitements antibiotiques et ALEA :

Après 4 semaines de vie des animaux, un écart de presque 60% est constaté dans le nombre moyen de traitements antibiotiques entre les lots AV (0,9 traitements) et NAV (2,2 traitements) (tableau 1). Cette amélioration se traduit aussi par la diminution du nombre de jours de traitements antibiotiques, passant à 3,13j en moyenne pour les lots AV contre 6,43j pour les lots NAV.

Le nombre de traitements à visée ORT est de 1,3 traitement, pour le groupe NAV et 0,15 pour le groupe de lots AV. Le nombre de jours de traitement ORT diffère aussi significativement entre les lots NAV (3,63) pour le groupe NAV et AV (0,37).

Dans le groupe de lots AV, un lot a reçu un traitement à la suite d'une infection respiratoire à ORT lors de la mise en place du premier autovaccin contenant un sérotype articulaire.

Il n'y a cependant, dans cette étude, pas de différence significative concernant le nombre de traitements non ORT (majoritairement à visée colibacillaire) ni d'impact sur l'utilisation d'antibiotiques critiques.

	Lots NAV	Lots AV	Significativité
Nombre moyen de traitements	2,2	0,90	P<0,01
Dont ORT	1,3	0,15	P<0,001
Non ORT	0,90	0,75	Non significatif
Dont antibiotique critique	0/20	1/20	Non significatif
Nombre total de jours de traitement	6,43	3,13	P<0,05
Nombre de jours de traitement ORT	3,63	0,37	P<0,001
ALEA	2.05	0.80	P<0,01

Tableau 1. *Comparaison des traitements antibiotiques réalisés après 4 semaines d'âge.*

Cette différence dans le nombre de traitement antibiotique et le nombre moyen de jour de traitement a un impact direct sur l'ALEA qui est de 2,05 sur les lots NAV et 0,80 sur les lots AV.

2.3. Résultats d'abattage :

Les résultats d'abattage sont significativement meilleurs sur les lots autovaccinés, avec une marge moyenne dindonneau-aliment (MDA) de 25,6€/m² pour les lots AV contre 22,1€/m² pour les lots NAV (Figure 1). On note aussi que les résultats obtenus sont plus stables sur les lots autovaccinés, avec un coefficient de variation de 11,9% contre 18,1% pour les lots NAV.

Cette différence de MDA s'explique par une amélioration du GMQ moyen et de l'indice de consommation des dindons (Tableau 2, p<0,05) ainsi que par une mortalité plus faible sur les lots AV (-25% de mortalité après départ des femelles, p>0,05) et un plus faible taux de saisie.

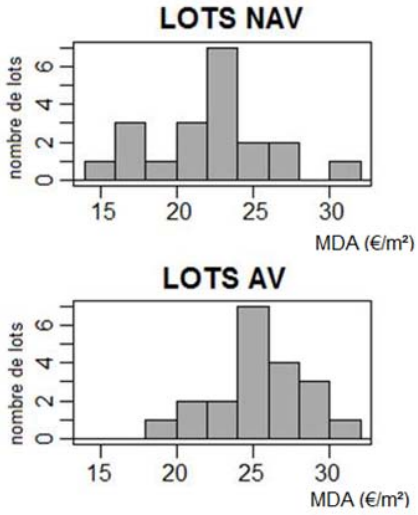


Figure 1. *Comparaison des MDA - lots NAV et AV*

	Lots NAV	Lots AV	Significativité
Poids moyen	10,75	11,12	Non significatif
GMQ moyen	100,5	103,8	P<0,05
IC moyen	2,365	2,296	P<0,05
% perte total	7,12	5,95	Non significatif
% perte avant 10j	2,53	2,51	Non significatif
% perte après 10j	4,62	3,44	Non significatif
% perte après départ des femelles	1,50	1,12	Non significatif
% saisie	1,52	1,34	Non significatif
IP	398	426	P<0,001
MDA	22,1	25,6	P<0,001

Tableau 2. *Comparaison des résultats technico-économiques des 2 groupes.*

L'index de performances (IP) est supérieur pour le groupe des lots AV, P<0,001, mais cet indicateur est à prendre avec précaution car les lots dans les 2 groupes

proviennent de différentes organisations de production et abattus dans différents abattoirs.

2.3. Retour sur investissement

La différence de MDA observée ci-dessus ne prend pas en compte les coûts de mise en place de l'autovaccin et les coûts de traitement engendrés en partie par les infections à ORT.
A noter aussi que les MDA évoluent d'année en année et dans le cadre de notre étude, les 4 lots pris pour chaque élevage se chevauchent sur 2 années à suivre et cela ne semble pas être très impactant dans la comparaison des moyennes des groupes.

Le coût moyen de la mise en place de l'autovaccin dans cette étude est de 1,53€/m², comprenant le l'autovaccin et le chantier de vaccination.
Le coût moyen des traitements antibiotiques après 4 semaines d'âge est de 0,12€/m² sur les lots AV et de 1,22€/m² sur les lots NAV.

On obtient alors un retour sur investissement conséquent avec une différence supérieure à 3€/m² de la MDA corrigée des coûts de prévention/traitement d'ORT.

	Lots AV	Lots NAV
MDA	25,6 €/m²	22,1 €/m²
Coût AV	1,53 €/m²	0 €/m²
Coût traitement	0,12 €/m²	1,22 €/m²
MDA corrigée	23,95 €/m²	20,88 €/m²

Tableau 3 : *comparaison des MDA des lots AV et lots NAV incluant les coûts autovaccin et traitements.*

CONCLUSION

En plus d'être économiquement rentable, ces résultats suggèrent que l'auto-vaccin ORT en production de dinde est associé à un moindre recours à l'antibiothérapie et permet ainsi de répondre aux cahiers des charges des organisations de production et aux attentes des clients. De plus, pour les éleveurs qui se professionnalisent en production de dinde de chair, l'auto-vaccin offre une sérénité, un confort de travail et une rentabilité durable.

Désormais, l'analyse rétrospective des données dans cette étude mérite d'être confrontée à une comparaison des résultats et des données de lots contemporains témoins et vaccinés dans les mêmes élevages en tenant compte des événements sanitaires et techniques autres que l'ORT pouvant impacter les résultats finaux.
De plus, la même approche sur une plus grande échelle avec un plus grand nombre de lots, permettra probablement de confirmer avec des analyses statistiques plus fines que la solution autovaccin est une valeur technique et économique sûre.

REMERCIEMENTS :

Cette étude a été réalisée en collaboration des vétérinaires CRISTAL (Christophe DELANGHE, Pauline BERNARD, Jérôme DURAND, Arnaud BALLOT, Charley BABIN, Mokrane MELLAL) avec Ceva Biovac (Stéphanie CASTAGNOS) et le soutien et les conseils de Mr Gerard MOULIN de l'ANSES - ANMV.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Charlton BR, Channing-Santiago SE, Bickford AA, Cardona CJ, Chin RP, Cooper GL, Droual R, Jeffrey JS, Meteyer CU, Shivaprasad HL, Walker RL (1993). Preliminary characterization of a pleomorphic Gram-negative rod associated with avian respiratory disease. J Vet Diagn Invest. Jan;5(1):47-51

FICHE ACTION 15 (AXE 2) PROMOUVOIR LA RECHERCHE DANS LE DOMAINE DE L'IMMUNITÉ ET DE L'UTILISATION DE VACCINS OU D'AUTOVACCINS - agriculture, 1er Septembre 2012
Plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire FICHE ACTION 15 (AXE 2) PROMOUVOIR LA RECHERCHE DANS LE DOMAINE DE L'IMMUNITÉ

Le plan Ecoantibio 2012- 2016, Décembre 2016, CGAAER n° 16041, mesure 15, mesure 20 (les espèces mineures sont en attentes de solution thérapeutiques validées : 15-16-60

Rapport annuel, octobre 2015, édition scientifique, ANSES- ANMV du suivi des ventes des médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2015 : 5-6-11-12

Non publié : Groupe de travail : calcul des indicateurs d'exposition aux antibiotiques (espèce veau) par Magdéléna Chanteperdrix, service qualité de la viande – Institut de l'élevage, 30 mars 2015, Idele.fr

Annexe 1. Tables de calcul des indicateurs

Estimation de nombre de jours de traitements réel

$$= \frac{\text{Somme (du nbre de jours de distribution du traitement} \times \text{nbre d'animaux traités)}}{\text{Somme d'animaux traités.}}$$

ALEA DES TRAITEMENTS ANTIBIOTIQUES : Animal level exposure to antimicrobials = ALEA (niveau d'exposition des animaux aux antimicrobiens):

$$\text{ALEA} = \frac{\text{nACD (Poids vif traité pour un médicament donnée) Kg}}{\text{Nbre d'animaux traités} \times \text{Poids théorique ou réel au traitement (Biomasse) Kg}}$$

$$\text{nACD} = \left[\frac{\text{Quantité du principe actif (kg)}}{\text{Posologie (mg/kg)} \times \text{Durée de traitement (J)}} \right] 10^{6}$$

- *ACD : animal course dose (nACD est le nombre d'ACD KG)*
- *Ces indicateurs ont été utilisés dans les calculs pour chaque molécule prescrite pour chaque lot inclut dans cette étude. Ils ne peuvent en aucun cas être utilisé systématiquement et en état dans d'autres situations et d'autres approches.*

Compléments d'informations :

Les spécialités antibiotiques concernées par cette étude dans le cadre du calcul des indicateurs d'exposition aux antibiotiques et le calcul de l'ALEA : Tétracycline, Tylosine, Tiamuline, Doxycycline, Tilmicosine, Trimethoprime, Sulfamides, Colistine et Ampicilline.

Les indicateurs économiques pris en considération dans l'approche économiques sont les suivants : MDA (marge dindonneaux aliment), Poids moyen, mortalité moyenne, GMQ moyen, IC moyen, % de perte totale, % perte à 10%, % de perte après 10 jours, % perte après le départ des femelles, coût des traitements antibiotiques, coût de l'autovaccin (fabrication et injection), % de saisie abattoir, IP (index de performance).

RESEAU CRISTAL
SANTE ANIMALE

INTÉRÊT DE L'AUTOVACCIN *ORNITHOBACTERIUM RHINOTRACHEALE* EN PRODUCTION DE DINDE DE CHAIR SUR LES PERFORMANCES

MELLAL Mokrane [1], BABIN Charley[2]

[1] VET&SPHERE – Réseau Cristal, ZI de Tirpen, 56140 Malestroit, France

[2]Fili@vet – Réseau Cristal, 7 Rue des Artisans, 79300 Bressuire, France

INTRODUCTION

L'infection à *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) est une dominante pathologique dans la filière dinde de chair, qui entraine des pertes économiques considérables pour les éleveurs et un recours conséquent à l'antibiothérapie. Une des solutions proposées contre cette pathologie sur le terrain est la mise en place d'un autovaccin injectable.

Cette étude a pour but de démontrer l'impact positif de l'autovaccin ORT dans la filière dinde de chair, son intérêt technico-économique et ainsi promouvoir cette solution préventive et alternative aux antibiotiques.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Nous avons collecté, pour 10 élevages du Grand-Ouest ayant mis en place un autovaccin, les résultats d'analyses de laboratoire, les résultats technico-économiques (GTE) et d'antibiothérapie sur les deux lots précédents sa mise en place (lots NAV) et les deux premiers lots auto-vaccinés (lots AV). Nous comparons alors 20 lots NAV et 20 lots AV.

La mortalité de démarrage et les traitements réalisés avant 4 semaines ne sont pas pris en compte, l'infection à ORT n'étant pas aussi précoce.

L'ALEA (Animal Level Exposure to Antimicrobials), indicateur d'exposition aux antibiotiques retenu dans les plans Eco-Antibio, est calculé pour chacun des lots.

Une analyse statistique des moyennes des 2 groupes a été réalisée.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats technico-économiques des lots AV sont meilleurs que les lots NAV. On observe notamment une augmentation de la marge dindonneau aliment (MDA) de 3,5€/m². Celle-ci s'explique par une diminution des pertes indirectes liées à l'ORT : les lots AV sont supérieurs en gain moyen quotidien (GMQ) et en indice de consommation (IC) moyen, donc en indice de performance (IP).

	Lots NAV	Lots AV	Significativité
Poids moyen	10,75	11,12	Non significatif
GMQ moyen	100,5	103,8	P<0,05
IC moyen	2,365	2,296	P<0,05
% perte total	7,12	5,95	Non significatif
% perte après 10j	4,62	3,44	Non significatif
% perte après départ des femelles	1,50	1,12	Non significatif
% saisie	1,52	1,34	Non significatif
IP	398	426	P<0,001
MDA	22,1	25,6	P<0,001

Tableau 2. Comparaison des résultats technico-économiques des 2 groupes.

La MDA corrigée (MDA – coûts de prévention / traitement) est aussi largement en faveur des lots AV, la diminution des coûts de traitements antibiotiques compense en partie les frais de mise en en place de l'autovaccin (coût de l'autovaccin + coût d'intervention et d'injection du vaccin).

	Lots AV	Lots NAV
MDA	25,6 €/m²	22,1 €/m²
Coût AV	1,53 €/m²	0 €/m²
Coût traitement	0,12 €/m²	1,22 €/m²
MDA corrigée	23,95 €/m²	20,88 €/m²

Tableau 3. Comparaison des MDA des lots AV et lots NAV incluant les coûts autovaccin et traitements

L'autovaccin permet aussi de limiter largement le recours à l'antibiothérapie, le nombre de traitement antibiotique moyen par lot diminue de 2,2 (lots NAV) à 0,9 (lots AV), et le nombre de traitement à visée ORT de 1,3 à 0,15 traitement par lot.

L'ALEA diminue de 2,05 à 0,8 (moyennes dans les 2 groupes), .

L'autovaccin permet ainsi de diminuer l'exposition aux antibiotiques.

	Lots NAV	Lots AV	Significativité
Nombre moyen de traitements	2,2	0,90	P<0,01
Dont ORT	1,3	0,15	P<0,001
Non ORT	0,90	0,75	Non significatif
Dont antibiotique critique	0/20	1/20	Non significatif
Nombre total de jours de traitement	6,43	3,13	P<0,05
Nombre de jours de traitement ORT	3,63	0,37	P<0,007
ALEA	2,05	0,80	P<0,01

Tableau 1. Comparaison des traitements antibiotiques réalisés après 4 semaines d'âge.

CONCLUSION

Cette étude suggère que l'autovaccin ORT est une solution alternative pour diminuer le recours aux antibiotiques dans la filière dinde de chair. En plus d'être économiquement rentable, l'autovaccin offre aux producteurs de dinde de la sérénité, du confort de travail et une rentabilité durable.

Une étude similaire à plus grande échelle ou une comparaison des lots de dinde contemporains témoins et vaccinés dans les mêmes élevages permettront probablement de confirmer avec la même approche que l'autovaccin ORT est une solution technique et économique sûre.

RÉFÉRENCES

Charlton et *al*, Vet Diagn Invest. Jan;5(1):47-51.

Le plan Ecoantibio 2012- 2016, Décembre 2016, CGAAER n° 16041.

Plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire (fiche action 15).

Rapport annuel, octobre 2015, édition scientifique, ANSES- ANMV du suivi des ventes des médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2015 : 5-6-11-12.

EVALUER LE RETOUR SUR INVESTISSEMENT D'UN CHANGEMENT DE PROTOCOLE VACCINAL AU COUVOIR EN POULETS LABEL - DEVELOPPEMENT D'UN CALCULATEUR INTEGRANT DES DONNEES TECHNICO-ECONOMIQUES DE L'AMONT A L'AVAL

Béra Claire[1], Cariou Nadine[2], Trébault Justine[2], Mellal Mokrane[1]

[1]VET&SPHERE, Réseau Cristal, ZI de Tirpen 56150 MALESTROIT, [2]MSD Santé Animale, 7 rue Olivier de Serres 49071 BEAUCOUZE

c.bera@reseaucristal.fr

RÉSUMÉ

Depuis ces dix dernières années, le développement des technologies vaccinales avec l'administration de vaccins au couvoir a permis d'alléger les programmes vaccinaux en élevage. Cependant, il reste difficile d'estimer précisément à ce jour la rentabilité attendue de la mise en place d'un vaccin au couvoir pour un lot d'une production.

L'objectif de cette étude était de développer un nouvel outil de calcul de retour sur investissement de la mise en place d'un vaccin au couvoir pour un lot en production de poulets Label. L'étude a consisté en une analyse rétrospective des résultats technico-économiques d'élevage et des résultats d'abattage de lots de poulets Label noir abattus dans le même abattoir entre octobre 2019 et avril 2020. Les moyennes des résultats technico-économiques et des résultats d'abattage des groupes « vaccin au couvoir » et « vaccin en élevage » (témoin) ont été comparées via des tests de *Student* et de *Wilcoxon*, avec un seuil de significativité de la *p-value* fixé à 0,05.

La comparaison des résultats de 118 lots de poulets Label noir a révélé plusieurs paramètres d'intérêt dont la mortalité totale, l'hétérogénéité du lot, l'indice de consommation économique, l'index de performance et le prix moyen vif payé. Après définition de paramètres relatifs au couvoir, à l'élevage et à l'abattoir, une grille de calcul de retour sur investissement a été établie et testée à plusieurs échelles : de l'élevage et du groupe d'élevages.

Ce calculateur représente un des premiers outils d'estimation du retour sur investissement de la mise en place d'un vaccin au couvoir, intégrant des données de l'amont à l'aval.

ABSTRACT

Return on investment's evaluation of changing hatchery vaccination protocol in Label chickens - Development of a new tool integrating technico-economic data from upstream to downstream

During the last decade, the development of vaccine technologies in hatcheries led to the simplification of vaccine programs in farms. Until now it has been difficult to estimate the per flock profitability of a hatchery-based vaccine program.

The objective of this study was to build a new tool for calculating the return on investment of setting up a vaccine at the hatchery for a flock of Label chicken. The study consisted in a retrospective analysis of on-farm technico-economic results and slaughtering results of Black Label chicken flocks slaughtered in the same slaughterhouse between October 2019 and April 2020. Flocks were divided into two groups according to the vaccine administration: at the hatchery or on the farm. The means of the technico-economic results and the slaughtering results were compared between the "hatchery vaccine" and "farm vaccine" (control) groups using Student's and Wilcoxon's tests with a significance level of the p-value set at 0.05.

The comparison of the results of 118 Black Label chicken flocks shows several parameters of interest including total mortality, flock heterogeneity, economic feed conversion and European Production Efficiency Factor and paid live mean weight. After attributing the fixed parameters relating to hatchery, farm and slaughterhouse, a return-on-investment grid was established and tested at several scales: the breeding farm and the breeding group.

This calculator represents one of the first tools for estimating the return on investment of setting up a vaccine at hatchery, integrating data from upstream to downstream.

INTRODUCTION

Avec l'avènement de la vaccination *in-ovo*, les technologies vaccinales ont connu un essor considérable au cours de ces dix dernières années. L'administration de vaccins au couvoir permet un allègement des programmes vaccinaux en élevage et une protection vaccinale efficace mais représente un investissement économique plus important. Plusieurs professionnels de la filière souhaitent étudier la pertinence d'adapter leurs protocoles vaccinaux et sont confrontés à l'absence d'estimation précise de la rentabilité attendue de la mise en place d'un vaccin au couvoir pour un lot d'une production. L'objectif de cette étude était de développer un nouvel outil de calcul de retour sur investissement de la mise en place d'un vaccin au couvoir pour un lot en production de poulets Label, dans le but d'accompagner les professionnels de la filière dans le choix d'un protocole vaccinal adapté.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Recueil des données

L'étude a été menée en France sur la totalité des lots de poulets Label noir abattus dans un même abattoir en Bretagne entre octobre 2019 et avril 2020.
Plusieurs paramètres d'intérêt ont été sélectionnés selon leur influence potentielle ou avérée sur les résultats financiers du lot. Ils concernent aussi bien les données technico-économiques d'élevage (mortalité totale (%), hétérogénéité du lot (%), indice de consommation économique (ICE), gain moyen quotidien (GMQ) (g/j), index de performance (IP), marge poussin-aliment par m² (marge PA, €/m²)) que les données d'abattage (poids moyen vif payé (kg), taux de retraits à l'abattoir (%), rendement prêt-à-cuire (PAC) (%)). L'indice de consommation économique est défini comme la quantité totale d'aliment ingéré divisée par le nombre de kilogrammes de volailles valorisables à l'abattoir. L'index de performance se définit par le produit du gain moyen quotidien, de la viabilité, d'un facteur 10, le tout divisé par l'indice de consommation (Marcu et *al.*, 2013).

1.2. Validation des données issues de l'abattoir

Il est fréquemment rapporté dans la littérature scientifique l'existence d'une variation des résultats d'abattage selon les opérateurs présents aux postes de retraits (Salines et *al*., 2017). Il a ainsi été question de limiter tout biais d'information pouvant être lié aux résultats d'abattage dans cette étude. Parmi l'ensemble des lots sélectionnés, cinq ont été tirés au sort à des dates d'abattage différentes pour faire l'objet d'audits approfondis par un vétérinaire ayant des compétences reconnues en contrôle post-mortem en abattoir de volailles. Ces audits ont consisté en un contrôle complet du lot tout au long de la chaine d'abattage, avec une attention particulière sur les postes de retraits. Les causes de retraits ont pu être vérifiées et les résultats d'abattage confirmés.

1.3. Constitution des groupes et analyses statistiques

Par la suite, les lots ont été répartis en deux groupes selon le type d'administration du vaccin : au couvoir (VC) ou en élevage (témoin, T).
Excepté les paramètres pour lesquels les tailles d'échantillons seraient inférieurs à 30, les moyennes des résultats technico-économiques et des résultats d'abattage des différents groupes ont été comparées via des tests de *Student*, avec un seuil de significativité de la *p-value* fixé à 0,05.
Dans le cas de paramètres pour lesquels les tailles d'échantillons seraient inférieurs à 30, les moyennes ont été comparées via des tests de *Wilcoxon*, avec un seuil de significativité de la *p-value* fixé à 0,05.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Résultats des comparaisons entre les groupes « vaccin couvoir » et témoin

Un total de 118 lots de poulets Label noir provenant de poulaillers différents a été comptabilisé au sein de 60 sites d'élevages, soit 71 lots avec le vaccin réalisé au couvoir et 47 lots avec le vaccin réalisé en élevage ont été inclus dans l'étude. Les moyennes des différents résultats dans chacun des groupes ainsi que les résultats des analyses statistiques sont regroupés dans les tableaux 1 et 2.
Le groupe « vaccin au couvoir » présente de meilleurs résultats technico-économiques que le groupe témoin avec un index de performance présentant 5 points de plus ($p<0,001$). La comparaison de la mortalité totale et de l'indice de consommation économique entre ces groupes va également dans ce sens, excepté la différence de gain moyen quotidien qui n'est pas significative ($p = 0,836$). Bien que la différence des moyennes des taux de retraits ne soit pas significative entre les groupes, l'indice de consommation économique est significativement inférieur dans le groupe VC ($p = 0,019$). La marge poussin-aliment et le rendement prêt-à-cuire sont meilleurs dans le groupe VC bien que les différences entre les 2 groupes ne soient pas statistiquement significatives.
Les lots appartenant au groupe VC présentent en moyenne de meilleures performances en poids. L'hétérogénéité est en moyenne inférieure de 2,90% chez les lots vaccinés au couvoir ($p = 0,004$) et le poids moyen vif payé est en moyenne supérieur de 0,08 kg ($p = 0,004$).
Les comparaisons des moyennes entre les groupes « vaccin au couvoir » et témoin a permis de mettre en lumière plusieurs paramètres d'intérêt dans cette étude, notamment la mortalité totale, l'hétérogénéité

du lot, l'indice de consommation économique, l'index de performance et le prix moyen vif payé.

2.2. Elaboration du calculateur de retour sur investissement

La construction du calculateur de retour sur investissement s'est faite en deux étapes. La première a été de référencer les paramètres fixes, comme données « outils » nécessaires au fonctionnement du calculateur, ainsi que les indicateurs économiques d'intérêt, données centrales à partir desquelles les analyses de retour sur investissement ont été établies.
Les indicateurs économiques d'intérêt ont été sélectionnés parmi les paramètres étudiés précédemment entre les groupes « vaccin au couvoir » et témoin. Leur choix a été conditionné par leur pertinence aussi bien d'un point de vue statistique qu'économique. Dans le cas de cette étude, les données d'hétérogénéité, de mortalité totale et de rendement PAC ont été priorisés en tant qu'indicateurs figurant dans le tableau de bord.
Les données fixes nécessaires au fonctionnement du calculateur concernent le site d'élevage (surface du bâtiment, nombre d'animaux mis en place), le coût économique de la vaccination concernée (couvoir versus élevage), le coût des intrants (poussin, aliment), ainsi que la valorisation et dévalorisation économique à l'abattoir (prix de la tonne du vif, prix de la tonne déclassé selon les catégories propres à l'abattoir).
La deuxième étape de l'élaboration du calculateur a consisté en conversion économique de l'ensemble des paramètres étudiés en indicateurs économiques d'intérêt sur la base des paramètres fixes renseignés. Cette conversion permet ainsi de pouvoir comparer les différents résultats économiques pour chacun des indicateurs au sein du groupe testé et du groupe de référence. Un tableau de bord en tête du calculateur cible les indicateurs économiques majeurs (Figure 1).
Ce calculateur permet la comparaison des indicateurs économiques à différentes échelles : élevage, groupe d'élevages, etc.
Une phase de test a été réalisée à différentes échelles et a permis de valider le calculateur.

2.3. Discussion

De manière globale, le groupe « vaccin au couvoir » semble présenter de meilleurs résultats technico-économiques que le groupe témoin. Néanmoins, plusieurs différences apparaissent non significatives, notamment la marge poussin-aliment par m² et le gain moyen quotidien. La marge poussin-aliment par m² est en effet dépendante du prix payé à l'éleveur, des aides à la production mais aussi du prix des poussins et de l'aliment. Entre septembre 2019 et avril 2020, l'indice ITAVI, qui reflète le coût optimisé des matières premières entrant dans différentes formules d'aliments pour volailles, a connu une augmentation de 5,7% (ITAVI, 2019 ; ITAVI, 2020). De même, plusieurs facteurs peuvent influencer le gain moyen quotidien, tels que la gestion d'élevage, l'aliment et la gestion sanitaire. Ces éléments peuvent ainsi expliquer l'absence de différence significative pour ces deux paramètres.
Des résultats d'abattage pertinents tels que le rendement PAC et le taux de retraits ne montrent pas de différences statistiquement significatives entre les deux groupes. Ces données ayant fait l'objet d'audits approfondis sur cinq lots avant le recueil des données, l'absence de différence significative réelle ne peut être exclue dans la population. Ces lots audités ne représentant que 4% des lots sélectionnés dans l'étude, il aurait été ainsi préférable d'auditer à *minima* 10 à 20 % des lots. L'organisation entre les différents postes de retraits, la formation du personnel et la vitesse de chaine d'abattage sont des facteurs de variations dans la gestion des retraits et peuvent expliquer ces résultats (Salines et *al*., 2017).
Enfin, le choix des indicateurs économiques d'intérêt ayant été réalisé à partir de données relatives à une production, un abattoir et un vaccin donné, ce calculateur reste ainsi très spécifique du vaccin étudié et de la filière de production ciblée. L'utilisation de ce calculateur à plus large échelle pour les mêmes types de vaccin et de production nécessitera la constitution d'un échantillon le plus représentatif possible de la population d'élevages à tester dans le calculateur et d'inclure l'ensemble des abattoirs potentiellement concernés dans la zone géographique étudiée.

CONCLUSION

Ce calculateur se révèle être un des premiers outils d'estimation du retour sur investissement de la mise en place d'un vaccin au couvoir, intégrant des données technico-économiques de l'amont à l'aval. Le travail sur un échantillon d'élevages d'un type de production relatif à un abattoir donné justifie le caractère spécifique de ce calculateur et garantit la fiabilité des résultats obtenus lors de son utilisation. L'un des enjeux principaux dans la construction d'un calculateur applicable à plus large échelle sera de garantir une fiabilité relativement équivalente à celle obtenue.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ITAVI, 2019. Actualités des filières. Conjoncture mensuelle sept-oct 2019. Rev. e-TEMA, 5.
ITAVI, 2020. Actualités des filières. Conjoncture mensuelle avril-mai 2020. Rev. e-TEMA, 5.
Marcu Adela, Vacaru-Opri I., Marcu Adrian, et al., 2013. Sci. Pap: Ani. Sc. and Biotec., (46), 339-346.
Salines M., Allain V., Roul H., Magras C., Le Bouquin S., 2017. Veterinary Record, (21), 516.

Tableau 1. Paramètres technico-économiques et résultats d'abattage au sein des groupes « vaccin au couvoir » (VC) et témoin (T).

	Groupe	*Moyenne*	*n*	*Std dev*	*Min*	*Max*
Rendement PAC	T	70,88%	47	1,53%	66,24%	73,37%
	VC	71,39%	71	1,52%	64,75%	74,35%
IP	T	79,65	34	7,85	61,00	95,00
	VC	85,64	59	5,79	65,00	100,00
Retraits abattoir	T	1,16%	47	3,05%	0,11%	18,64%
	VC	0,80%	71	1,74%	0,03%	12,89%
GMQ (g/j)	T	27,06	44	2,24	24,01	32,92
	VC	26,97	65	2,21	23,18	31,91
ICE	T	3,13	34	0,18	2,78	3,54
	VC	3,05	59	0,14	2,78	3,46
Poids moyen vif payé (kg)	T	2,20	47	0,09	2,02	2,41
	VC	2,28	71	0,17	1,92	2,62
Mortalité totale	T	4,31%	34	3,45%	1,19%	16,69%
	VC	3,16%	59	1,55%	0,35%	8,08%
Hétérogénéité	T	15,30%	9	0,98%	14,27%	16,91%
	VC	12,40%	14	2,12%	9,46%	15,82%

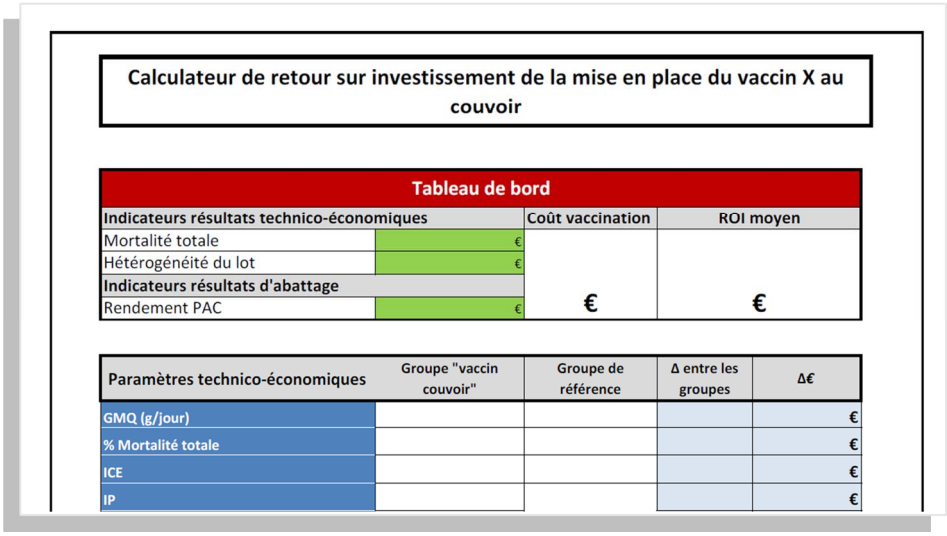
n : taille de l'échantillon pour lequel les valeurs étaient renseignées. Std dev : déviation standard. Min : minimum. Max : maximum

Tableau 2. Résultats des tests de *Student* et de *Wilcoxon* entre les groupes « vaccin au couvoir » (VC) et témoin (T) pour chacun des paramètres d'intérêt.

	Δ (VC – T)	*p-value*
Rendement PAC	0,51%	0,078
IP	5,99*	<0,001
Retraits abattoir	-0,36%	0,417
GMQ (g/j)	-0,09	0,836
ICE	-0,08*	0,019
Poids moyen vif payé (kg)	0,08*	0,004
Mortalité totale	-1,15%*	0,030
Hétérogénéité	-2,90%*	0,004

*Δ (VC - T) signifie la différence des moyennes du paramètre mesuré entre le groupe VC et le groupe T. GMQ : gain moyen quotidien. IP : index de performance. ICE : indice de consommation économique. Rendement PAC : rendement prêt-à-cuire. * p-value < 0,05*

Figure 1. Extrait du tableur Excel du calculateur de retour sur investissement de la mise en place d'un vaccin au couvoir



Calculateur de retour sur investissement de la mise en place du vaccin X au couvoir

Tableau de bord			
Indicateurs résultats technico-économiques		**Coût vaccination**	**ROI moyen**
Mortalité totale	€		
Hétérogénéité du lot	€		
Indicateurs résultats d'abattage			
Rendement PAC	€	€	€

Paramètres technico-économiques	Groupe "vaccin couvoir"	Groupe de référence	Δ entre les groupes	Δ€
GMQ (g/jour)				€
% Mortalité totale				€
ICE				€
IP				€

EFFICACITE DE LA VACCINATION AU COUVOIR DE POULETS DE CHAIR CONTRE LA BRONCHITE INFECTIEUSE (MASS + 793/B) : COMPARAISON DES PERFORMANCES TECHNICO-ECONOMIQUES SELON LA PRESSION VIRALE SAUVAGE

Moreau Elisabeth[1], Savonik Ivanna[1], Lecoupeur Mathilde[1], Cotta Higor[1], Leorat Jean[1], Mouchel Simon[1]

[1]*Ceva Santé Animale – 10 avenue de la Ballastière - 33500 Libourne*
elisabeth.moreau@ceva.com

RÉSUMÉ

La bronchite infectieuse est une maladie virale hautement contagieuse, présente mondialement, affectant les tractus respiratoires, urogénital et intestinal des poulets et des poules pondeuses. En production avicole, le coronavirus de la bronchite infectieuse (IBV) est un des agents pathogènes ayant le plus grand impact économique. Nous avons voulu étudier l'efficacité de la protection conférée par un programme complet de vaccination (valences Massachusetts et 793/B) appliqué au couvoir par pulvérisation sur des poussins de chair d'un jour à travers l'étude des performances de production. 133 lots de poulets lourds (Ross 308) ont été inclus dans l'étude qui a été réalisée entre janvier 2020 et avril 2021. Les poulets ont été vaccinés à 1 jour au couvoir avec un vaccin du groupe Massachusetts (Cevac Mass L®, souche B48) et un vaccin du groupe 793/B (Cevac IBird®, souche 1/96) en mélange et administrés par pulvérisation, conformément aux recommandations de l'AMM. Des prélèvements de sang ont été réalisés le jour de l'abattage sur 10 poulets par lot étudié. Les anticorps ont été titrés par sérologie (méthode ELISA, kit IBV BioChek). Les lots de poulets ont été classés en deux groupes déterminés en fonction des résultats de l'analyse sérologique : un premier groupe dont les titres sont dans l'attendu suite à la vaccination au couvoir (titre moyen autour de 3000) et un deuxième groupe dont les titres évoquent un passage viral sauvage (20% des titres supérieurs à 4500). Les résultats technico-économiques des deux groupes ont été comparés de manière statistique (test Student). Plus d'un quart des lots étudiés a été soumis à une pression sauvage de bronchite infectieuse (groupe challengé), les autres lots ayant des titres sérologiques conformes à l'attendu (groupe non-challengé). Il n'apparaît pas de différence significative entre ces deux groupes ($p > 0,05$) concernant les paramètres considérés (indice de conversion, gain moyen quotidien, indice de performance, mortalité, saisies). Cela démontre que le virus de la bronchite infectieuse circule activement au sein des lots de poulets de chair étudiés et qu'une association vaccinale complète (Mass + 793/B), administrée au couvoir permet de protéger efficacement contre les pertes technico-économiques liées à cette infection virale. En conclusion, cette étude montre que la vaccination de poulets à 1 jour avec l'association Cevac Mass L® et Cevac IBird® apporte une stabilité des performances techniques quelle que soit la pression sauvage en bronchite infectieuse.

ABSTRACT

Efficacy of infectious bronchitis (Mass + 793/B) hatchery vaccination on broilers : comparison of the production performances according to field virus challenge

Infectious bronchitis is a highly contagious viral disease, present worldwide, affecting the respiratory, urogenital and intestinal tracts of chickens and laying hens. In poultry production, the infectious bronchitis coronavirus (IBV) is one of the pathogens with the greatest economic impact. We wanted to study the effectiveness of the protection conferred by a complete vaccination program (Massachusetts and 793/B valences) applied in the hatchery by spraying on day-old broiler chicks through the study of production performance. 133 lots of heavy chickens (Ross 308) were included in the study which was carried out between January 2020 and April 2021. The chickens were vaccinated at day 1 in the hatchery with a vaccine from the Massachusetts group (Cevac Mass L®, strain B48) and a vaccine from the 793/B group (Cevac IBird®, strain 1/96) mixed and administered by spraying, in accordance with the recommendations of the SPC. Blood samples were taken on the day of slaughter from 10 chickens per flock studied. The antibodies were titrated by serology (ELISA method, IBV BioChek kit). The flocks were classified into two groups determined according to the results of the serological analysis: a first group with titers expected after a hatchery vaccination (average titer around 3000) and a second group with titers suggesting a wild viral outbreak (20% of the titers over 4500). The technical and economic results of the two groups were compared statistically (Student test). More than a quarter of the flocks studied were subjected to wild pressure from infectious bronchitis (challenged group), the other flocks having serological titers in line with expectations after vaccination (non-challenged group). There is no significant difference between these two groups ($p > 0.05$) concerning the parameters considered (feed consumption ratio, average daily gain, performance index, mortality, condemnation). This shows that the infectious bronchitis virus is actively circulating in the groups of broilers studied and that a complete vaccine combination (Mass + 793/B), administered at the hatchery, provides effective protection against the technical and economic losses associated with this viral infection. In conclusion, this study shows that the vaccination of chickens at 1 day with the combination of Cevac Mass L® and Cevac IBird® provides stability of technical performance regardless of the field pressure of infectious bronchitis.

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses représentent une cause majeure de pertes économiques pour l'industrie de la volaille dans le monde. A côté des coûts liés à une mortalité accrue et des baisses de performances, d'autres coûts indirects peuvent être identifiés. Les contraintes liées à la gestion des animaux, la mise en place de mesures de biosécurité effectives, une sensibilité accrue à d'autres maladies infectieuses ou non-infectieuses, les coûts de traitement et les saisies à l'abattoir peuvent affecter sévèrement la profitabilité de l'exploitation (Mc Leod et al., 2016). L'utilisation des antibiotiques contre les pathogènes primaires ou opportunistes (bénéficiant d'infections virales primaires) est découragée et limitée par la législation, en particulier au sein de Union Européenne (Murphy, et al. 2017). De plus, la tendance croissante pour des productions "sans antibiotiques" conduit à une dévalorisation économique des lots traités aux antibiotiques. (Goddard et al, 2017, Ancilloti et al, 2018). En complément des améliorations continues des mesures de biosécurité et de management de l'élevage, l'utilisation de vaccins efficaces est un outil essentiel dans ce contexte, car ils préviennent ou réduisent la sensibilité des animaux aux infections et à leurs conséquences. La bronchite infectieuse aviaire est une maladie virale hautement contagieuse. Elle est considérée comme étant l'une des causes majeures de pertes économiques pour l'industrie de la volaille dans le monde. Le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) est un coronavirus enveloppé à ARN du genre Gammacoronavirus. La plupart des souches de virus de la bronchite infectieuse (IBV) cause d'abord des maladies respiratoires chez les oiseaux. Cependant, certaines souches peuvent s'étendre à d'autres organes, comme les reins et le tractus génital, ce qui conduit à des néphrites, de la diarrhée, des chutes de ponte avec dégradation de la qualité des œufs produits et de la mortalité. La nécessité de contrôler cette maladie a amené à optimiser les stratégies vaccinales. Actuellement, en France, un protocole de vaccination comprenant une souche Massachussets associée à une souche 793/B, appliquées par spray au couvoir à 1 jour d'âge est largement répandu. L'utilisation du vaccin Cevac Mass L®, associé en mélange au vaccin Cevac IBird®, administré selon les préconisations de l'AMM au couvoir procure une protection de 9 semaines.

L'efficacité de la protection conférée par ce protocole de vaccination appliqué à 1 jour sur des poulets de chair de souche Ross 308 abattus à 42 jours, a été étudié à travers l'étude des performances de production. Pour ce faire, les données produites par un suivi épidémiologique sérologique de ces lots mis en place pour surveiller la bonne qualité de la vaccination et pour investiguer la pression virale sauvage sur le terrain ont été étudiées.

1. MATERIELS ET METHODES

Animaux et vaccins

133 lots de poulets Ross 308 élevés dans l'Ouest de la France ont été sélectionnés de manière aléatoire dans le cadre d'un suivi du contrôle de la vaccination et de la pression virale sauvage sur une période comprise entre janvier 2020 et avril 2021. Tous les lots inclus avaient reçu un programme de vaccination associant en mélange les vaccins Cevac Mass L® et Cevac IBird® au couvoir à un jour par nébulisation. Les poussins proviennent tous de couvoirs suivis dans le cadre du CHICK Program®. Il s'agit d'un service de routine proposé par Ceva Santé Animale assurant le suivi de la vaccination par les couvoirs. C'est un programme qui consiste en des audits, des formations, de la maintenance des équipements et en des conseils en vue de l'amélioration continue des processus. Il est réalisé par les membres d'une équipe spécialisée et formée. Ce sont des professionnels qualifiés dont l'activité de contrôle des bonnes pratiques de vaccination est structurée par un référentiel qualité (Quality Code of Practice, ref. CT814 V6.04/10/19) dont la conformité est attestée par une compagnie d'audit externe indépendante (Bureau Veritas Group).

Prélèvements

Les lots de poulets analysés ont été abattus à un âge moyen de 42 jours, des prélèvements de sang ont été réalisés à l'abattoir avec un échantillonnage de 10 sujets prélevés par lot.

Sérologie

Les méthodes basées sur la détection d'anticorps sont utilisées pour évaluer la circulation d'IBV sauvage ou pour étudier la réponse immunologique induite par une vaccination. Dans cette étude, la méthode ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) a été retenue, avec l'utilisation du kit Infectious Bronchitis Virus Antibody Test BioChek.

Les lots de poulets ont été classés en deux groupes en fonction de leurs résultats sérologiques.

Le titre moyen attendu à 42 jours pour des poulets vaccinés avec Cevac Mass L® et Cevac IBird® en association au couvoir est de 3000 environ.

Etant donné l'âge d'abattage des poulets (42 jours), et considérant qu'en cas de passage viral sauvage tardif sur le lot, tous les sujets n'auraient pas le temps de séroconvertir, il a été déterminé que tout sujet ayant un titre sérologique supérieur à 4500 avait été challengé par un virus sauvage.

Pour considérer qu'un lot a été exposé à un virus sauvage, il doit avoir au moins deux serums avec des titres supérieurs à 4500. (20% d'oiseaux challengés sur l'échantillon = lot challengé)

Tableau 1 : Règle de classification des groupes de lots de poulets sur critères sérologiques (ELISA IBV).

Echelle individuelle	Titre sérologique individuel <4500	Titre sérologique individuel ≥4500
	Oiseau non exposé à virus IBV	Oiseau exposé à virus IBV
Echelle du lot de poulet	< 2 oiseaux exposés à virus IBV	≥ 2 oiseaux exposés à virus IBV
	Lot non-challengé	Lot challengé

Collecte et qualité des résultats technico-économiques

Les résultats technico-économiques des lots ont été fournis par les organisations de production propriétaires des animaux. Les données mises à disposition sont : le nombre d'oiseaux mis en place par lot, l'âge d'abattage, le poids à l'abattage (en kg), l'indice de performance (EPEF), l'indice de conversion (IC), le gain quotidien moyen (GMQ, en g), la mortalité (%), le taux de saisie à l'abattoir, la densité d'élevage (oiseaux/m²).

Paramètre d'élevage	Définition
Indice de conversion (IC)	Quantité d'aliment ingérée en kg par une volaille pour prendre un kg de poids vif
Indice de performance EPEF, European Production Efficiency Factor)	$\frac{GMQ \times \%\ survie}{10 \times IC}$
Gain moyen quotidien (GMQ)	Evolution moyenne quotidienne du poids des animaux sur une période donnée.

Etude statistique des résultats

La méthode statistique d'analyse est le test de Student avec un seuil à p=5%.

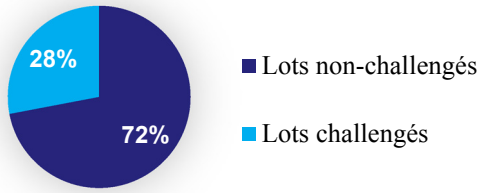
2. RESULTATS ET DISCUSSION

Détermination des deux groupes

Le groupe challengé (20% d'oiseaux challengés avec titres >4500) regroupe 38 lots sur 133 (soit 28% des lots suivis).

Le groupe non-challengé contient 95 lots sur 133 (soit 72% des lots suivis).

Graphe 1 – Répartition des deux groupes (selon le challenge viral IBV)



Etude statistique

Il n'a pas été observé de différence statistique entre les deux groupes sur les paramètres étudiés, (p > 0,05), EPEF, indice de conversion, gain moyen quotidien, mortalité et saisies à l'abattoir (Tableau 2).

Tableau 2 : Comparaison des résultats technico-économiques des deux groupes de lots de poulets.

Indicateur	Groupe non-challengé	Groupe challengé	p
EPEF	352	345	0,215
IC	1,706	1,710	0,731
GMQ	63 g/j	62 g/j	0,102
Mortalité	4,8%	4,8%	0,946
Saisies	0,62%	0,61%	0,869

Discussion

L'impact économique important de la bronchite infectieuse aviaire sur la production de poulet encourage la mise en place massive de stratégies de

vaccination. Comme pour d'autres pathogènes, le contrôle de la bronchite infectieuse passe par une bonne gestion de la biosécurité associée à la vaccination. En effet, l'application de mesures de biosécurité strictes n'est pas synonyme de protection complète contre une maladie.

Cette étude montre que le virus de la bronchite infectieuse circule activement parmi les lots vaccinés (28%) et que la protection vaccinale conférée par un programme vaccinal associant une souche Massachussets à une souche du groupe 793/B appliquées en mélange au couvoir permet de protéger efficacement contre les pertes technico-économiques engendrées par cette maladie.

CONCLUSION

Cette étude montre que la vaccination de poulets à 1 jour avec l'association Cevac Mass L® et Cevac IBird® apporte une stabilité des performances techniques quelle que soit la pression sauvage de la bronchite infectieuse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ancillotti, M., S. Eriksson, J. Veldwijk, J. Nihlen Fahlquist, D.I. Andersson, T. Godskesen. (2018). Public awareness and individual responsibility needed for judicious use of antibiotics : a qualitative study of public beliefs and perceptions. BMC Public Health 18:1153.

Cook, J.K., M. Jackwood, R. Jones. (2012). The long Ancillotti, M., S. Eriksson, J. Veldwijk, J. Nihlen Fahlquist, D.I. Andersson, T. Godskesen. (2018). Public awareness and individual responsibility needed for judicious use of antibiotics : a qualitative study of public beliefs and perceptions. BMC Public Health 18:1153.
Cook, J.K., M. Jackwood, R. Jones. (2012). The long view : 40 years of infectious bronchitis research. Avian Pathology 41:239-250.

Franzo, G., W. Swart, W. Boyer, D. Pasotto, G. Ramon, K. Koutoulis, M. Cecchinato. (2020). Poultry science 99:2976-2982)

Goddard, E., M. Hartmann, J. Klink-Lehmann. (2017). Public acceptance of antibiotic use in livestock production Canada and Germany. Int. Eur. Forum 2017:424-437

Jackwood, M. W. (2012). Review of infectious bronchitis virus around the world. Avian diseases 56:634-641.
Legnardi, M., Tucciarone C. M., Franzo G., Cecchinato M. (2020). Infectious bronchitis virus evolution, diagnosis and control. Veterinary sciences 22/06/2020

McLeod, A., J. Pinto, J. Lubroth, V. Martin, and J. Rushton. (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations : Economic analysis of animal diseases, Vol. 18. FAO Animal Production and Health Guidelines, Rome, Italy.

Murphy, D., A. Ricci, Z. Auce, J. G. Beechinor, H. Bergendahl, R. Breathnach, J. Bures, J. P. Duarte Da Silva, J. Hederova, P. Hekman, C. Ibrahim, E Kozhuharov, G. Kulcsar, E. Lander Persson, J. M. Lenhardsson, P. Maciulskis, I. Malemis, L. Markus-Cizelj, A. Michaelidou-Pastia, M. Nevalainen, P. Pasquali, J. Rouby, J. Schefferlie, W. Schlumbohm, M. Schmit, S. Spiteri, S. Srcic, L. Taban, T. TIIRats, B. Urbain, E. Vestergaard, A. Wachnick-Swiecicka, J. Weeks, B Zemann, A. Allende, D. Bolton, M. Chemaly, P. S. Fernandez Escamez, R. Girones, L. Herman, K. Koutsoumanis, R. Lindqvist, B. Norrung, L. Robertson, G. Ru, M. Sanaa, M. Simmons, P. Skandamis, E. Snary, N. Speybroeck, B. Ter Kuile, H. Wahlstrom, K. Baptiste, B. Catry, P. S. Cocconcelli, R. Davies, C. Ducrot, C. Friis, G. Jungersen, S. More, C. Munoz Madero, P. Sanders, M. Bos, Z. Kunsagi, J. Torren Edo, R. Brozzi, D. Candiani, B. Guerra, E. Liebana, P. Stella, J. Threlfall, H. Jukes, and H. Jukes. (2017). EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). EFSA J. 15.

Tucciarone, C. M., G. Franzo, G. Berto, M. Drigo, G. Ramon, K. C. Koutoulis, E. Catelli, M. Cecchinato. (2018). Evaluation of 793/B-like and Mass-like vaccine strain kinetics in experimental and field conditions by real-time RT-PCR quantification. Poultry Science 97:303-312.

IMMUNISATION PASSIVE DES POUSSINS PAR L'ADMINISTRATION D'UN AUTOVACCIN AUX POULES REPRODUCTRICES

Keita Alassane[1], Le Devendec Laetitia[1], Amelot Michel[1], Puterflam Julie[2], Lucas Camille[1], Bougeard Stéphanie[1], Delannoy Sabine[3], Schouler Catherine[4], Fach Patrick[3], Souillard Rozenn[1], Kempf Isabelle[1]

[1]*ANSES* - BP53 - 22440 *PLOUFRAGAN*
[2]*ITAVI* - 41 rue de Beaucemaine - 22440 *PLOUFRAGAN*
[3]*AN*SES - 14 rue Pierre et Marie Curie - 94700 *MAISONS-ALFORT*
[4]ISP, INRAE - Université de Tours - 37380 *NOUZILLY*

Alassane.keita@anses.fr

RÉSUMÉ

La colibacillose, due à certaines souches de Escherichia coli (APEC) est une cause majeure de mortalité et d'utilisation d'antibiotiques chez les volailles. Aucun moyen efficace n'existe aujourd'hui pour prévenir cette pathologie chez le poussin. Nous avons évalué l'efficacité d'un autovaccin chez le poussin par administration chez les reproducteurs. Trois souches APEC caractérisées (facteurs de virulence, sérogroupe et phylogroupe) ont été utilisées pour mettre au point des modèles de reproduction de la colibacillose chez le jeune poussin (phase 1). Les animaux ont été inoculés en sous cutané à 1 ou 2 jours d'âge avec environ $3x10^7$ E. coli par animal et la mortalité a été suivie pendant 10 jours. Deux des souches ont ensuite servi à fabriquer un autovaccin bivalent qui a été administré à des poules reproductrices. Les poussins issus de poules vaccinées ou non ont été inoculés avec chacune des souches APEC du vaccin (challenges homologues) lors de la phase 2.

Deux des souches (AP1 et AP2) se sont révélées virulentes pour le poussin, la troisième (AP3) n'a entrainé ni mortalité ni signe clinique. AP1 induit une maladie sévère avec la mort de tous les poussins en moins de 6 jours et AP2 une mortalité d'environ 50%. Dans nos conditions, aucune protection passive n'a été observée vis-à-vis de AP1, avec au moins 90% de mortalité chez les poussins issus de poules vaccinées ou non. A contrario, ceux issus de poules vaccinées, et inoculés avec AP2 présentaient un taux de mortalité (40%) significativement moins élevé que ceux issus de poules non vaccinées (80%). Cette protection, observée lors de challenges homologues doit être confirmée en tenant compte d'autres paramètres (challenges hétérologues notamment).

ABSTRACT

Passive immunisation of chicks using an autogenous vaccine when administered in breeders

Avian Colibacillosis, caused by pathogenic strains of Escherichia coli (APEC) is a major cause of death and antibiotic use in poultry. There is no effective means today to prevent this pathology in chicks. We evaluated the efficacy of an autogenous vaccine in chicks by administration in breeders. Three characterized APEC strains (virulence factors, serogroup and phylogroup) were used to develop in vivo models of colibacillosis in young chicks (phase 1). Animals were inoculated subcutaneously at 1-2 days of age with approximately $3x10^7$ E. coli per animal and mortality was monitored for 10 days. Two APEC strains were then used to produce a bivalent autogenous vaccine which was administered to breeder hens. Chicks from vaccinated and unvaccinated hens were inoculated with each of the APEC strains of the vaccine (homologous challenges) during the phase 2.

Two of the strains (AP1 and AP2) were found to be virulent for chicks, the third (AP3) did not cause any mortality nor clinical signs. AP1 causes severe disease with the death of all chicks within 6 days and AP2 causes approximately 50% mortality. Under our conditions, no passive protection was observed against AP1, with at least 90% mortality in chicks from vaccinated or unvaccinated hens. Conversely, those from vaccinated hens and challenged with AP2 had significantly lower mortality rate (40%) than those from unvaccinated hens (80%). This protection, observed during homologous challenges, has to be confirmed taking into account other parameters (heterologous challenges in particular).

INTRODUCTION

La colibacillose aviaire est la pathologie bactérienne dominante dans les élevages de Gallus gallus (poulets de chair et poules pondeuses notamment). Elle est due aux souches pathogènes d'Escherichia coli (appelées APEC pour Avian Pathogenic Escherichia Coli) qui provoquent des infections extra-intestinales chez les volailles. Elle entraine une mortalité et une morbidité élevées et des baisses de production De plus, E. coli peut être un pathogène zoonotique d'origine alimentaire et une source ou un réservoir d'infections extra-intestinales chez l'homme (Maryvonne Moulin-Schouleur et al., 2007 ; Liu et al., 2018). Pour contrôler la maladie, des antibiotiques sont fréquemment utilisés. Ces traitements constituent un risque avéré de sélection et de dissémination de gènes de résistance et de souches bactériennes résistantes, posant également un problème de santé publique. La colibacillose s'exprime le plus souvent chez le poussin de moins d'une semaine mais également après 15 jours d'âge. Une des problématiques est donc de pouvoir protéger le poussin dès l'éclosion.
Les APEC possèdent de nombreux facteurs de virulence et une combinaison de ces facteurs pour provoquer la colibacillose (Christensen et al., 2021 ; Kathayat et al., 2021). Différents profils génétiques peuvent être ainsi définis sans qu'il y ait un moyen simple de déterminer leur pathogénicité éventuelle chez le poulet.
Du fait de cette diversité génétique, notamment, et de la nécessité de protéger le poussin dès l'éclosion, il n'existe aujourd'hui aucun vaccin commercial répondant à la demande des éleveurs. Le seul vaccin commercial disponible contient une souche d'E. coli O78 atténuée, offrant une protection vis-à-vis de cette souche, avec un début d'immunité s'établissant 2 semaines après la vaccination. Il permet de réduire les lésions dues à la colibacillose mais pas la mortalité, alors même que ce paramètre est essentiel dans le contrôle de la maladie (Galal et al., 2018). Pour ces raisons, ce vaccin souffre d'une efficacité limitée et est donc peu utilisé.
Les autovaccins pourraient apporter une réponse satisfaisante à cette diversité de souches. Ils sont produits à partir de souches APEC isolées dans le troupeau atteint où l'autovaccin est utilisé. Un tel vaccin pourrait être utilisé soit directement sur les animaux cibles, soit via une stratégie d'immunisation passive (administration du vaccin aux mères et transmission des anticorps aux poussins). Cette dernière stratégie aurait pour objectif de protéger le poussin dès l'éclosion. De plus, il n'est pas économiquement viable d'utiliser un vaccin inactivé chez le poussin car cela demanderait une manutention dont le coût ne pourrait être supporté par les filières avicoles. En revanche, une poule donnant plusieurs dizaines voire centaines d'œufs, le fait d'administrer l'autovaccin à la poule pour protéger le poussin reste une stratégie pérenne, y compris lorsque cela nécessite plusieurs injections vaccinales.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Sélection et caractérisation des souches APEC

La sélection a été faite à partir de 1050 E. coli isolés de cas cliniques ou d'environnement, sur lesquels 68 variables ont été mesurées (66 marqueurs de virulence ainsi que le phylogroupe et le sérogroupe). Notre premier objectif était de sélectionner trois souches APEC représentatives ayant provoqué de la colibacillose en élevage, dans le but de les utiliser pour la mise au point de modèles. De ce fait, les analyses statistiques (incluant l'analyse par correspondance multiple et ensuite le « clustering » hiérarchique optimisé) ont été effectuées sur un échantillon de 268 APEC répondant à ce critère. Les 3 souches sont nommées E. coli 19-381 (AP1), 19-383 (AP2-M1) et 19-385 (AP3-M1).
Les groupes phylogénétiques de AP1, AP2-M1 et AP3-M1 sont respectivement B2, F et B1.

1.2. Phase 1 : pathogénicité des souches AP1, AP2-M1 et AP3-M1 pour les poussins

Deux souches de poulet ont été utilisées. La première est la race Leghorn de l'Anses et la seconde est le Ross 308 de la société Aviagen, qui est la souche de poulet de chair la plus répandue en Europe.
L'utilisation de deux souches de poulet a permis de vérifier la sensibilité de notre souche Leghorn EOPS vis-à-vis des APEC par rapport à celle du Ross 308.
Les souches d'E. coli ont été inoculées aux poussins âgés d'1 à 2 jours, par voie sous cutanée (environ 3.10^8 E. coli par ml à raison de 0,1 ml par animal), les animaux témoins recevant le milieu de culture stérile (EPT), selon le tableau 1 ci-dessous.

Les animaux ont ensuite été suivis jusqu'à J9 (J0 = inoculation). En cas de mortalité ou après sacrifice à J9, les animaux ont été autopsiés et les lésions spécifiques de la colibacillose recherchées: aérosacculite, péricardite, péri-hépatite. Des essais de réisolement des E. coli inoculées ont été effectués, à partir des foies et rates des oiseaux autopsiés. Les critères suivants ont été analysés : mortalité, gains de poids entre J0 et J9, réisolement à partir du foie et de la rate.

1.3. Phase 2 : immunisation passive

Un autovaccin bivalent (souches AP1 et AP2-M1) inactivé et adjuvé a été fabriqué par un laboratoire agréé (Labocea, Ploufragan).
Quarante poules Leghorn EOPS, hébergées dans des cages aménagées, ont été réparties aléatoirement en

deux lots: 20 d'entre elles ont été vaccinées deux fois à 20 et 22 semaines et les 20 autres ont reçu une solution saline aux mêmes âges (groupe témoin). Chaque cage abritait également 4 coqs Leghorn EOPS non vaccinés. Des œufs fertiles ont été collectés pendant deux semaines après la deuxième vaccination. Par conséquent, ces œufs ont été collectés sur des poules âgées de 22 à 24 semaines. Les poules ont été observées pour une évaluation clinique de la première injection jusqu'à la fin de la collecte des œufs. Les œufs fertiles des deux groupes de poules ont été incubés dans le même incubateur mais en évitant de les mélanger. Des poussins d'un jour ont ensuite été obtenus à partir de poules vaccinées et non vaccinées. Six groupes de 20 poussins ont ensuite été constitués aléatoirement de manière à obtenir des poids moyens (et écart-type) similaires dans les différents groupes (Tableau 2). Tous les oiseaux ont été bagués. Les animaux d'un groupe donné ont été hébergés dans des isolateurs à pression négative de niveau 2. Les mêmes paramètres que pour l'expérience de pathogénicité ont été suivis : mortalité quotidienne, poids corporel avant inoculation et à la fin de l'expérience. En cas de mortalité ou pour dix oiseaux vivants à la fin de l'expérience, des lésions de colibacillose ont été déterminées et des échantillons de foie et de rate ont été prélevés.

1.4. Analyse des données

Les taux de mortalité ont été analysés par le test du Chi-deux ou le test exact de Fischer pour les petits échantillons. Les poids ont été comparés entre groupes par ANOVA ou le test de Wilcoxon, en fonction du nombre d'observations et de la vérification des hypothèses de normalité. Le seuil de signification était de $p < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Essai de pathogénicité

Le profil de virulence des trois souches APEC était très différent.

La mortalité chez les poussins Ross308 était de 0% (groupes témoin et AP3-M1), 84% (groupe AP2-M1) et 100% (groupe AP1), tous les animaux mourant dès le lendemain de l'inoculation pour cette dernière APEC. Concernant les poussins Leghorn, la mortalité a été de 0% (groupes témoin et AP3-M1), 52% (AP2-M1) et 100% (AP1), tous les animaux mourant avant J4 pour cette dernière APEC. Ainsi, on peut observer que les deux races de poulets étaient sensibles à la colibacillose, même si le taux de mortalité était significativement plus élevé pour les Ross308 que pour les Leghorn pour l'APEC AP2-M1. Conformément aux résultats de mortalité, le poids vif à J9 des poussins témoins et des poussins inoculés avec AP3-M1, quelle que soit la souche de poulet, était significativement plus élevé que ceux des poussins survivants inoculés avec AP2-M1.

Concernant les résultats post-mortem, aucune lésion n'a été observée dans le groupe témoin. Dans les autres lots, une congestion généralisée a été notée lorsque la mort était subite. A l'inverse, lorsque les animaux ont survécu quelques jours, des lésions de péricardite et de périhépatite ont été observées.

Les nombres d'oiseaux positifs (réisolements de la souche E. coli inoculée) dans les groupes inoculés étaient significativement différents, avec le ratio le plus élevé dans le groupe inoculé avec AP1 (32 oiseaux positifs sur 32 analysés) et le plus faible dans le groupe inoculé avec AP3-M1 (7 oiseaux positifs sur 20 analysés), le groupe inoculé avecAP2-M1 étant intermédiaire (43 oiseaux positifs sur 50 analysés) Tous les isolats appartenaient aux phylogroupes attendus.

2.2. Immunisation passive

Aucun signe clinique n'a été observé chez les poules vaccinées ni chez les poules témoins. De plus, la production d'œufs et la fertilité des deux groupes étaient similaires.

Aucune mortalité de poussins n'a été notée dans les groupes témoins (témoin négatif et témoin vacciné). Aucune différence significative de mortalité n'a été notée entre les animaux non vaccinés et vaccinés (90 % contre 95 %) qui ont été inoculés avec la souche AP1. A l'inverse, pour les animaux qui ont été inoculés avec la souche AP2-M1, le taux de mortalité était significativement plus faible dans le groupe vacciné (40 %) que dans le groupe non vacciné (80 %), comme le montre également la figure 1.

CONCLUSION

Dans cette étude, nous avons sélectionné trois souches d'E. coli représentatives parmi plusieurs centaines d'APEC isolées de cas de colibacillose, pour des essais expérimentaux. Deux souches APEC se sont révélées très virulentes pour les poussins d'un jour, tandis que la troisième n'a induit aucune mortalité. Un autovaccin bivalent a ensuite été produit pour l'essai d'immunisation passive. Nous avons clairement démontré la protection des poussins vis-à-vis de l'une des deux souches APEC. Les travaux devraient se poursuivre pour évaluer l'effet de la quantité d'APEC inoculée, de l'âge des poules, du nombre de souches APEC dans l'autovaccin ou de différents adjuvants et étudier la persistance et les mécanismes de protection de l'immunisation passive et la protection contre les souches APEC hétérologues. L'âge des poules (45 semaines en phase 1 versus 24) pourrait expliquer la mortalité différente (50% en phase 1 versus 80%) due à AP2 entre les deux phases.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Christensen, H., Bachmeier, J. & Bisgaard, M. (2021). New strategies to prevent and control avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Avian Pathology, 1-12.

Galal, H.M., Tawfek, A.M., Abdrabou, M.I., Hessain, A.M., Alhaaji, J.H., Kabli, S.A., et al. (2018). Recent approaches for control of E. coli and respiratory complex in Middle East. Saudi journal of biological sciences, 25, 1302-1307.

Kathayat, D., Lokesh, D., Ranjit, S. & Rajashekara, G. (2021). Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC): An Overview of Virulence and Pathogenesis Factors, Zoonotic Potential, and Control Strategies. Pathogens, 10.

Maryvonne Moulin-Schouleur, M.R., Sylvie Laurent, Annie Brée, Sandrine Mignon-Grasteau, Pierre Germon, Denis Rasschaert, and Catherine Schouler. (2007). Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli Strains of Avian and Human Origin: Link between Phylogenetic Relationships and Common Virulence Patterns. Journal of Clinical Microbiology, 45, 3366–3376.

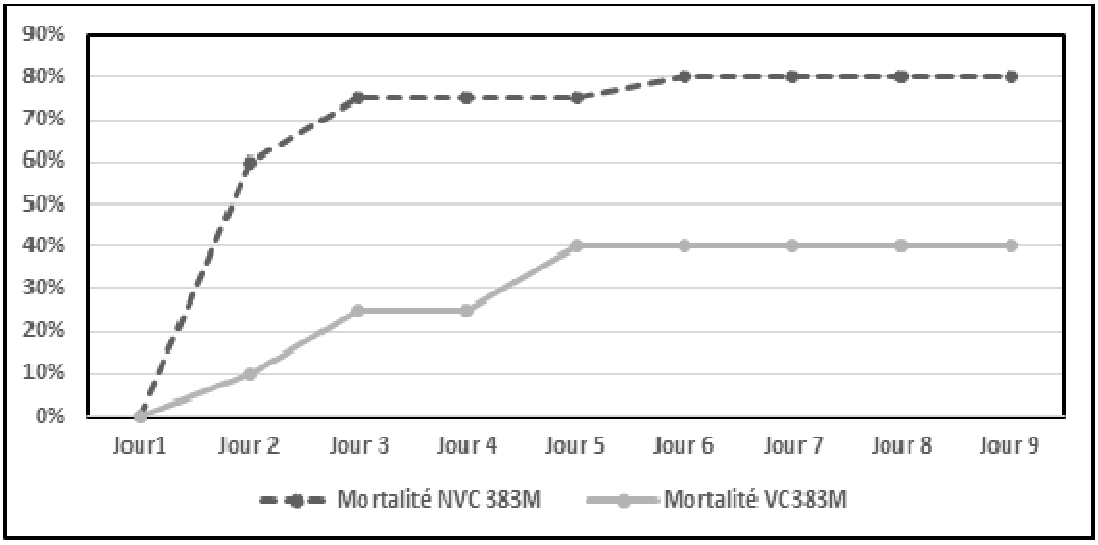
Tableau 1. Dispositif expérimental pour l'essai de pathogénicité des souches APEC testées

Animalerie	Parquet A	Parquet B
1	25 poussins EOPS inoculés EPT	25 poussins Ross inoculés EPT
2	25 poussins EOPS inoculés 19-381	25 poussins Ross inoculés 19-381
3	25 poussins EOPS inoculés 19-383-M1	25 poussins Ross inoculés 19-383-M1
4	25 poussins EOPS inoculés 19-385-M1	25 poussins Ross inoculés 19-385-M1

Tableau 2. Dispositif expérimental pour l'essai d'immunisation passive

Groupe(nombre)	Type	Poussins issus de poules vaccinées	Souche *E. coli* de challenge
NVNC (20)	Témoin négatif	Non	Non
NVC381 (20)	Non vacciné et challengé –AP1	Non	AP1
NVC383M (20)	Non vacciné et challengé –AP2-M1	Non	AP2-M1
VNC (20)	Témoin vacciné	Oui	Non
VC381 (20)	Vacciné et challengé AP1	Oui	AP1
VC383M (20)	Vacciné et challengé –AP2-M1	Oui	AP2-M1

Figure 1. Evolution du taux de mortalité post challenge avec AP2-M1 chez les poussins non vaccinés (NVC) et vaccinés (VC)



La colibacillose aviaire : immunisation passive des poussins via un autovaccin administré aux poules

[a]Keita Alassane, [a]Le Devendec Laetitia, [a]Amelot Michel, [b]Puterflam Julie, [a]Lucas Camille, [a]Bougeard Stéphanie, [c]Delannoy Sabine, [d]Schouler Catherine, [c]Fach Patrick, [a]Souillard Rozenn, [a]Kempf Isabelle

[a]Anses Ploufragan-Plouzané-Niort 22440 Ploufragan, France ; [b]ITAVI, 22440 Ploufragan, France ; [c]Anses, Plateforme IdentyPath, 94700 Maisons-Alfort, France; [d]INRAE, Université de Tours, ISP, 37380, Nouzilly, France

Introduction et objectifs

La colibacillose, due à certaines souches de *Escherichia coli* (APEC) est une cause majeure de mortalité et d'utilisation d'antibiotiques chez les volailles. Aucun moyen efficace n'existe aujourd'hui pour prévenir cette pathologie chez le poussin, même si des mesures de biosécurité efficaces diminueraient son incidence. Trois souches APEC caractérisées ont été utilisées pour mettre au point des modèles de reproduction de la colibacillose chez le jeune poussin (phase 1). Deux des souches ont ensuite servi à fabriquer un autovaccin bivalent qui a été administré à des poules reproductrices. Les poussins issus de poules vaccinées ou non ont été inoculés avec chacune des souches APEC du vaccin (challenges homologues) lors de la phase 2.

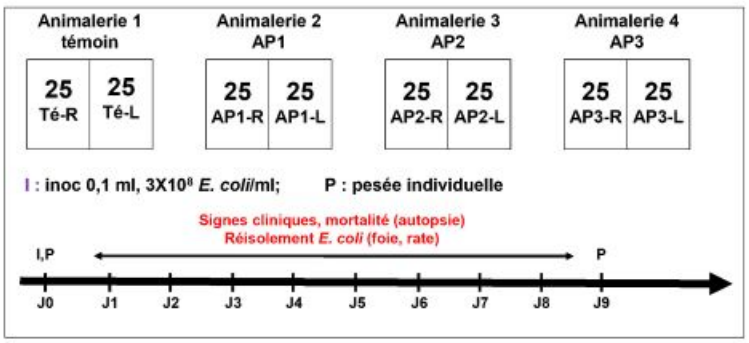
Sélection et caractérisation des souches APEC

La sélection a été faite à partir de 1050 souches de *E. coli* isolées de cas cliniques ou d'environnement d'élevage, sur lesquelles 68 marqueurs ont été recherchés (66 marqueurs de virulence ainsi que le phylogroupe et le sérogroupe).

Objectif : sélectionner trois souches APEC représentatives ayant provoqué de la colibacillose en élevage, dans le but de les utiliser pour la mise au point de modèles. Ainsi, 268 APEC répondant à ce critère ont été classées (analyse par correspondance multiple et clustering hiérarchisé). Les trois souches sélectionnées sont AP1, AP2 et AP3 de groupes phylogénétiques respectifs B2, F et B1.

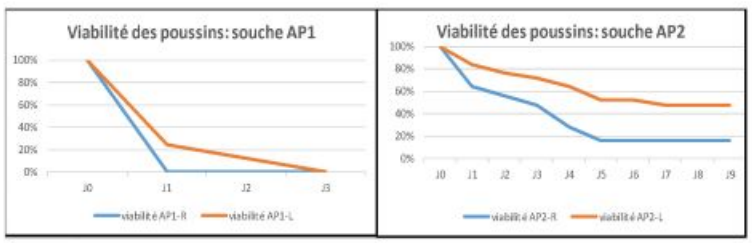
Phase 1 : mise au point des modèles animaux

Deux souches de poulets utilisées : Ross 308 (R) et Leghorn Anses (L)



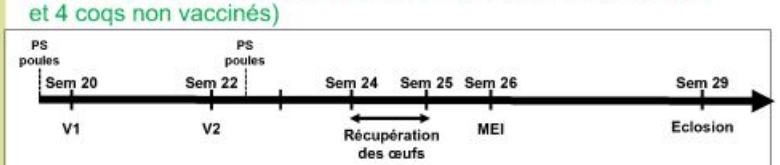
Résultats Phase 1

La souche AP3 (non présentée), n'a entrainé ni mortalité, ni signes cliniques



Phase 2 : autovaccination des poules et immunisation passive

Seule la souche Leghorn a été utilisée pour cette phase (dans 2 animaleries séparées: 20 poules et 4 coqs vaccinés et 20 poules et 4 coqs non vaccinés)

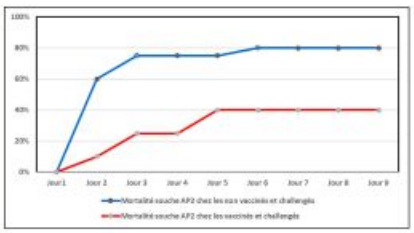


V: vaccination; PS: prise de sang; MEI: mise en incubation

L'autovaccin a été fabriqué avec les souches AP1 et AP2. Six groupes de poussins : 2 témoins (vacciné ou non, non challengé), 2 vaccinés et challengés (AP1 ou AP2) et 2 non vaccinés et challengés (AP1 ou AP2)

Résultats Phase 2

Aucun signe clinique observé chez les poules vaccinées ou témoins et production d'œufs similaire dans les deux groupes



Pour AP2, la mortalité est significativement ($p < 0,05$) moins élevée dans le groupe de poussins vacciné/challengé (40%) que dans le groupe non vacciné/challengé (80%)

Conclusion et perspectives

- Deux souches de *E. coli* (AP1 et AP2) se sont révélées virulentes pour le poussin
- Autovaccin bivalent fabriqué avec ces souches
- Immunisation passive démontrée vis-à-vis de l'une des souches APEC
- Travaux à poursuivre pour évaluer l'effet de la quantité d'APEC inoculée, l'âge des poules, le nombre de souches APEC dans l'autovaccin ou de différents adjuvants, la persistance et les mécanismes de protection de l'immunisation passive et la protection contre les souches APEC hétérologues.

Sanivol SANTE > BIEN-ETRE
anses
ITAVI L'INSTITUT TECHNIQUE DES FILIÈRES AVICOLE, CUNICOLE ET PISCICOLE
INRAE

Cette étude est une partie du projet Colisee financé par le Casdar RT 2016

MAITRISER LE RISQUE DE DIFFUSION DE L'INFLUENZA HAUTEMENT PATHOGENE ENTRE LES ELEVAGES DE VOLAILLES : EXEMPLE DE LA ZONE VENDEE-DEUX-SEVRES LORS DE L'EPIZOOTIE D'IAHP H5N8 DE 2020-2021 EN FRANCE

Scoizec Axelle[1], Huneau-Salaün Adeline[1], Souillard Rozenn[1], Thomas Rodolphe[1], Schmitz Audrey[1], Briand François-Xavier[1], Massin Pascale[1], Martenot Claire[1], Cherbonnel-Pansart Martine[1], Allée Chantal[1], R. Busson[1], Guillemoto Carole[1], Louboutin Katell[1], Pierre Isabelle[1], Souchaud Florent[1], Niqueux Eric[1], Grasland Béatrice[1], Mourrieras Christophe[2] et Le Bouquin-Leneveu Sophie[1]

[1] Anses – Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, BP 53, 22440 Ploufragan,
[2]DDPP85– 85000 La Roche Sur Yon, France
axelle.scoizec@anses.fr

RÉSUMÉ

Au cours de l'épizootie d'IAHP H5N8 en France pendant l'hiver 2020-2021, quatre foyers en élevage de volailles ont été détectés dans le bassin de production situé en Vendée et Deux-Sèvres. Malgré des densités d'élevage et de volaille importantes, avec notamment la présence d'élevages de canards à rôtir et de canards à foie gras, ces détections n'ont pas abouti à une diffusion large parmi les autres élevages de volailles de cette zone. A partir de l'analyse des données épidémiologiques et phylogéniques des virus, des mesures de prévention et de gestion, des caractéristiques de la filière avicole et de l'environnement dans cette zone, nous avons étudié les hypothèses les plus probables d'introduction du virus dans ces élevages, de diffusion entre élevages et les facteurs ayant contribué à prévenir la diffusion de l'infection. Les résultats montrent trois introductions distinctes dans des élevages en claustration de canards, à rôtir et reproducteurs, et une diffusion secondaire vers un élevage de pintades et de poulets de chair en claustration. La zone apparait notablement exposée à l'avifaune sauvage à risque, du fait de la forte présence de zones humides. L'hypothèse majeure retenue pour la contamination de ces trois foyers primaires est le contact indirect avec l'environnement contaminé par l'avifaune sauvage à la faveur d'une rupture dans la biosécurité appliquée quotidiennement. Celle privilégiée pour la diffusion vers le foyer secondaire est la transmission par voie aéroportée via des aérosols/poussières lors des opérations de dépeuplement du foyer voisin. La forte mobilisation des acteurs locaux a permis la claustration de l'ensemble des volailles en élevage sur la zone, la rapidité de détection et de dépeuplement des foyers, le dépeuplement préventif ou départ anticipé vers les abattoirs des lots pour les élevages à proximité des foyers, ce qui a contribué largement à la maitrise de la diffusion.

ABSTRACT

Controlling the risk of highly pathogenic avian influenza farm-to-farm spreading: example of the Vendée-Deux-Sèvres area during the 2020-2021 epizootic in France.

During the French HPAI H5N8 epizootic in the winter of 2020-2021, four outbreaks in poultry farms were detected in the production area located in Vendée and Deux-Sèvres. Despite the high density of poultry farms and the presence of duck farms, these detections did not lead to a widespread dissemination among poultry farms in this area. Based on the analysis of epidemiological data, virus phylogeny, prevention and management measures, characteristics of the poultry industry and the environment in this area, we investigated the most likely hypotheses for the introduction of the virus into these farms, the spread between farms and the factors that contributed to preventing the spread of the infection. The results show three separate introductions to indoor duck farms, roaster and breeder, and a secondary spread to an indoor guinea fowl farm. The area appears to be exposed importantly to wild birds, due to the high presence of wetlands. The main hypothesis retained for the contamination of these three primary outbreaks is indirect contact with the environment contaminated by infected wild birds due to a break in the biosecurity measures applied on a daily basis. For the secondary outbreak, airborne transmission via aerosols/dust during depopulation of the neighbouring outbreak was the most likely route. The strong mobilization of local stakeholders enabled the confinement of all poultry in the area, the rapid detection and depopulation of the outbreaks, and the preventive depopulation or early departure to slaughterhouses of batches of poultry in the vicinity of the outbreaks, which have largely contributed to the control of the spread.

INTRODUCTION

Durant l'hiver 2020-2021, une épizootie d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) de sous type H5 et de clade 2.3.4.4b a affecté de très nombreux pays européens. Lors de cette épizootie en France, 24 cas en avifaune sauvage libre, 2 cas en avifaune captive et 490 foyers de volailles domestiques ont été détectés. Comme lors de l'épizootie précédente, l'épizootie en France a principalement concerné le bassin de production de volailles du sud-ouest. A partir de début décembre 2020 et après une augmentation massive des détections fin décembre et début janvier 2021, 472 foyers ont en effet été détectés dans des élevages des départements Landes, Gers, Pyrénées-Atlantiques et Hautes-Pyrénées dont 416 dans des élevages avec des palmipèdes, principalement de la filière canards à foie gras. Dans le Grand-Ouest de la France, quatre cas en avifaune sauvage (oies et canards) ont été détectés entre fin novembre et début décembre 2020 dans le Calvados, le Morbihan et la Loire-Atlantique. Dans la semaine suivante, au sein de l'important bassin de production de volailles, dont de nombreux élevages de canards, situé dans les départements de Vendée, Deux-Sèvres, Maine-et-Loire et Loire-Atlantique, deux autres foyers ont été détectés : l'un dans un élevage de canards à rôtir de Vendée sur la commune de Saint Maurice des Noues et l'autre dans un élevage de canards reproducteurs des Deux-Sèvres sur la commune de Bressuire. Ces deux élevages étaient distants de plus de 30 km. Onze jours plus tard, un élevage de poulets et de pintades situé à 1,5 km du foyer de canards à rôtir a à son tour été détecté infecté sur la commune de Saint Maurice des Noues. Un dernier foyer en élevage sera détecté ensuite deux semaines plus tard en Vendée dans un autre élevage de canards à rôtir sur la commune de Saint Christophe du Ligneron, à près de 80 km des trois foyers antérieurs de ce bassin (Figure 1). Ces quatre détections n'ont ensuite pas été suivies par une diffusion massive de la maladie dans les élevages de ce bassin de production avicole très dense en élevages de galliformes et de palmipèdes.

Face à cette situation particulièrement favorable de diffusion de l'IAHP en regard des densités d'élevages et de volailles, une analyse des hypothèses les plus probables d'introduction du virus dans ces élevages, de diffusion entre élevages et des facteurs ayant contribué à prévenir la diffusion de l'infection, a été conduite.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Investigations épidémiologiques dans les foyers

Pour chacun des quatre foyers détectés, des investigations épidémiologiques ont été conduites par les services de l'Etat. Ces investigations ont porté à la fois sur la recherche et le dépistage des élevages en lien amont ou aval de chacun des foyers, ainsi que sur leurs sources et voies possibles de contamination, les mesures de biosécurité appliquées en routine et les réservoirs potentiels de virus au sein de l'élevage. L'ensemble des données collectées ont été partagées avec l'équipe du Laboratoire National de Référence pour l'IA de l'Anses (LNR).

1.2. Analyses phylogénétiques

Le séquençage complet du génome de virus IA a été réalisé par le LNR sur un échantillon pour chaque foyer. Les séquences ont ensuite été comparées entre elles et avec les autres séquences disponibles issues de détections en France et en Europe (Briand et al., 2022).

1.3. Contexte et historique de la zone en lien avec l'influenza aviaire

Les caractéristiques de la zone vis-à-vis du risque IA ont été collectées et analysées : communes classées en zone à risque particulier (ZRP) d'IA en lien avec l'avifaune sauvage à risque (AM du 16 mars 2016, NOR : AGRG1604341A), présence d'avifaune sauvage à risque, densités d'élevages de volailles, d'élevages de palmipèdes, densités de volailles, etc. L'historique des détections de virus d'influenza aviaire (VIA) de tout sous type dans le cadre de la surveillance IA ainsi que des autocontrôles réalisés sur les lots de PAG avant mouvement (NOR : AGRG1603907A, DGAL/SASPP/2018-405 28/05/ 2018 Instruction technique) a été consulté pour évaluer l'exposition de cette zone aux VIA en général.

1.4. Suivi des mesures de gestion et de prévention

L'ensemble des mesures de prévention et de gestion des foyers mises en œuvre ont été documentées par les services de l'Etat pour le département de Vendée.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Une zone au départ à risque élevé d'introduction et de diffusion de l'influenza aviaire

Cette zone se caractérise par des densités élevées d'ateliers et de volailles. Ainsi, dans les trois zones de contrôle mises en place autour des quatre foyers détectés, près de 900 ateliers de volailles ont été recensés dans un rayon de 10 km autour des foyers par les services de l'Etat au moment de la mise en place de ces zones. Cela représentait près de 3,2 millions de volailles pour les deux zones de Vendée. Dans ce bassin de production, outre l'élevage de galliformes, la production de palmipèdes est également importante : elle comprend à la fois des élevages de la filière canards à foie gras mais également des élevages de canards à rôtir. Près de 100 000 tonnes équivalent carcasse de canards y sont produites chaque année. Ces densités importantes d'élevages de palmipèdes et les mouvements inter-élevages de canards liés à la filière foie gras contribuent à un risque de diffusion accru de l'IA dans ce bassin. Des travaux sur les déterminants

géographiques du risque d'IAHP menés sur l'épizootie 2016-2017 (Guinat et al., 2019) ont montré que ce bassin est à risque important d'épizootie d'IAHP ainsi que certaines zones dans le sud-ouest de la France. Une grande partie de ce bassin de production est d'ailleurs maintenant classé en Zone de Risque de Diffusion de l'IA (ZRD) depuis l'Arrêté Ministériel biosécurité du 29 septembre 2021 (NOR : AGRG2129004A).

Ce bassin de production est par ailleurs exposé fortement à l'avifaune sauvage à risque d'IA (oiseaux d'eau) : outre environ 250 communes classées en ZRP, le bocage comporte de nombreux plans d'eau ce qui contribue à une exposition de l'ensemble du bassin au risque IA, même si les ZRP ont une exposition supérieure. De plus la position de ce bassin sur les voies de migration d'oiseaux sauvages Manche/Atlantique, fait que l'incidence de l'infection au sein de l'avifaune sauvage est très probablement supérieure à celle dans les zones en aval sur ces voies.

Les résultats de la surveillance influenza aviaire et notamment ceux des autocontrôles réalisés dans la filière des palmipèdes prêts à engraisser de 2018 à 2020, montrent une circulation importante des VIA en période hiver-printemps chaque année avec une introduction dans les élevages de nouveaux VIA de tout sous-type en début de saison suivie pour certaines souches d'une circulation ensuite dans des élevages de palmipèdes prêts à engraisser. Cela confirme que ce bassin de production de volailles, est à risque élevé d'introduction et de diffusion de VIA.

2.2. Une mobilisation des acteurs pour prévenir le risque

Face à la montée du risque d'IAHP lié à l'avifaune sauvage (sur l'ensemble du territoire, passage en risque modéré le 23 octobre et en risque élevé le 17 novembre 2020), l'ensemble des acteurs du secteur de la volaille, en concertation avec les services de l'Etat, se sont mobilisés pour appliquer les mesures de claustration ou mise sous filet des volailles, et ce dans une zone où l'élevage plein air est un secteur très important. La possibilité de dérogation à ces mesures a été cantonnée à des situations très particulières, ainsi moins de dix dérogations ont été accordées dans le département de la Vendée, à des élevages de pintades pour lesquels les parcours ont néanmoins été réduits. Les organisations professionnelles ont relayé auprès de leurs éleveurs les messages de vigilance dès les premiers messages d'alerte du Ministère.

2.3. Scenario le plus probable de contamination des foyers

Les analyses phylogénétiques (Briand et al., 2022) appuient l'hypothèse qu'il s'agit de trois introductions distinctes en élevage de canards claustrés (deux en Vendée, une en Deux-Sèvres) et d'un foyer secondaire (en Vendée, sur des pintades claustrées depuis 11 jours, foyer détecté à une distance de 1,5 km et 7 jours après le dépeuplement du foyer primaire). Aucun de ces trois élevages, foyers primaires, n'étaient situés en ZRP, néanmoins ils étaient tous situés en zone de bocage avec de très nombreux plans d'eau et à une distance comprise entre 15 et 20 km d'une commune classée en ZRP. Les données épidémiologiques disponibles concernant le premier foyer détecté en Vendée (canards à rôtir) et celui en Deux-Sèvres (canards reproducteurs), indiquent la forte présence d'avifaune sauvage à risque à proximité des élevages (sur les champs autour de l'élevage ou sur des plans d'eau situés entre 40 et 900 m du bâtiment infecté selon le foyer). Les services de l'Etat ont constaté que les équipements et l'organisation des élevages étaient conformes aux exigences en terme de biosécurité.

L'hypothèse majeure retenue pour la contamination de ces trois foyers primaires en Vendée et dans les Deux-Sèvres, après investigation de tous les liens amont et aval identifiés, est le contact indirect avec l'environnement contaminé par l'avifaune sauvage, à la faveur d'une rupture dans la biosécurité appliquée quotidiennement. Concernant le foyer secondaire, après exploration de tous les liens possibles avec le foyer primaire, l'hypothèse majeure retenue est l'exposition à des aérosols ou des poussières contaminées émises dans l'environnement à la faveur des opérations de dépeuplement du foyer primaire. Le foyer secondaire se situe sous les vents dominants du foyer primaire à une distance d'1,5 km (Figure 1).

2.4. Une gestion rapide des foyers, réactive du risque et concertée de la zone

La mise en œuvre du dépeuplement des foyers a été réalisée dans les un à trois jours après la détection de la présence d'un VIA de sous-type H5 en laboratoire de criblage pour les trois premiers foyers pour lesquels le dépeuplement a été réalisé par une entreprise spécialisée. Les délais supérieurs à un jour sont liés à la mobilisation de l'entreprise sur des foyers dans le sud-ouest de la France au moment de la détection. Le dernier foyer détecté a été dépeuplé le jour même du résultat du laboratoire de criblage par les équipes de la DDPP et les vétérinaires sanitaires mobilisés.

En plus de la surveillance mise en place dans les zones de contrôle autour des foyers et suite à la détection du foyer secondaire, un élevage de 36 500 poulettes futures pondeuses, situé entre le foyer primaire et le foyer secondaire, a été dépeuplé préventivement 9 jours après la détection du foyer secondaire, afin de limiter les risques d'une nouvelle propagation de proche en proche. De plus, l'ensemble des élevages de volailles situés en zone de protection (dans les 3 km autour d'un foyer), ainsi que des basses-cours à proximité des foyers ont été visités avec réalisation de prélèvements systématiques quelle que soit l'espèce. Ce scenario fait écho à une situation très similaire aux Pays Bas au démarrage de l'épizootie en Europe. Dans un rayon de 3 km autour d'un foyer de *Gallus* reproducteurs détecté fin octobre

2020, neuf élevages avicoles ont été testés négatifs vis-à-vis de la présence de VIA. Cependant, six jours après le signalement de la suspicion du foyer primaire, suite à une suspicion clinique, un de ces neuf élevages, un élevage de poules pondeuses de près de 100 000 poules a été détecté infecté par un virus IAHP H5N8. Pour prévenir la poursuite de la diffusion, les autorités néerlandaises ont décidé de dépeupler préventivement l'élevage de 115 000 oiseaux situé à 1 km du second foyer (source : https://www.nvwa.nl/nieuws-en-media/nieuws/2020/11/05/vogelgriep-vastgesteld-bij-pluimveebedrijf-in-puiflijk) .

Pour réduire le risque estimé important d'une nouvelle introduction d'un virus IAHP H5N8 depuis l'avifaune sauvage dans les élevages des zones de contrôle, les services de l'Etat de Vendée en concertation avec les organisations professionnelles, ont choisi de diminuer les densités de volailles sur les zones de contrôle vendéennes en anticipant autant que possible le départ des lots de volailles présents vers les abattoirs. Ainsi sur la zone de Saint Maurice des Noues, 412 000 puis 333 000 volailles ont été envoyées à l'abattoir sous laisser-passer sanitaire respectivement fin décembre et en janvier, sur une population initiale estimée à environ 1 million. Sur la zone de Saint Christophe du Ligneron, il s'agit de 525 000 puis 377 000 volailles respectivement en janvier puis en février sur une population initiale estimée à 2,2 millions. Cela correspond au final à une baisse de densité de volailles d'environ 50% sur les deux zones, et de 24 à 40% dans les trois semaines ayant suivi la première détection de chaque zone.

2.5. Les clés de la maîtrise et points à améliorer

La maitrise de la diffusion inter-élevage de l'IAHP après trois introductions distinctes dans ce bassin de production de volailles est très probablement le résultat de plusieurs actions combinées : à commencer par une collaboration importante des services de l'Etat avec les acteurs du secteur pour appliquer et faire appliquer les mesures de prévention telle que la claustration des lots de volailles. Ensuite, les délais réduits entre les déclarations de suspicion et la mise en œuvre du dépeuplement ont limité la durée d'excrétion des lots contaminés et le risque de diffusion. Ces délais sont passés de 4 (au départ du fait de la difficulté de mobilisation de l'entreprise spécialisée) à 2 jours grâce à la mobilisation des acteurs de terrain (services pour tous les foyers et vétérinaires sanitaires pour le dernier foyer). Finalement, une gestion réactive du risque avec le dépeuplement préventif d'un élevage de 36 500 volailles suite à la détection d'un foyer secondaire et la gestion concertée de la population de volailles des zones de contrôles par les services de l'Etat et les professionnels ont permis de diminuer les densités. Il s'agit donc principalement du résultat d'une collaboration forte entre les services de l'Etat et les professionnels avec une volonté partagée de mettre en œuvre toutes les actions possibles pour contrôler la diffusion de l'IAHP.

La détection d'un foyer secondaire pose la question des risques de diffusion à faible distance par voie aéroportée lors des opérations de dépeuplement des foyers. Le mode de dépeuplement qui requiert le déplacement des animaux de l'intérieur du bâtiment vers des caissons placés à l'extérieur, génère un important nuage de poussières, de plumes porteuses du virus vers l'extérieur. Une étude menée sur le terrain lors de l'épizootie IAHP H5N8 de 2016-2017 en France a montré qu'une quantité importante de génome viral d'IAHP était présente dans l'air au niveau de la zone de chargement des oiseaux aux cours d'une opération de dépeuplement d'un foyer (Scoizec et al., 2018). La capacité de portage des virus influenza par les poussières est maintenant bien établie et joue sans doute un rôle important dans la diffusion par portage mécanique (Asadi et al, 2020), sur une distance d'environ un kilomètre. Boender et al. (2007) ont démontré que les élevages situés à moins d'un kilomètre d'un site infecté (IAHP H7N7) sont près de 35 fois plus à risque d'être infectés par rapport aux élevages situés à au moins 10 km. Une révision des méthodes utilisées pour le dépeuplement afin de réduire davantage l'émission de virus dans l'environnement lors des opérations pourrait permettre de diminuer encore le risque de diffusion à partir d'un foyer primaire. De plus, le dépeuplement préventif des élevages avicoles les plus proches voisins d'un foyer pourrait être également appliqué avant toute détection de diffusion secondaire dans les zones de fortes densités d'élevages avicoles.

CONCLUSION

L'introduction d'un virus IAHP dans des élevages situés dans un bassin dense de production avicole, peut ne pas systématiquement aboutir à une diffusion massive de la maladie. L'exemple de la zone Vendée-Deux-Sèvres, nous enseigne qu'avec une collaboration étroite des services de l'Etat et des acteurs professionnels pour mettre en place des mesures de prévention fortes mais également des mesures de gestion rapides, réactives et inventives, une maitrise de la diffusion est possible.

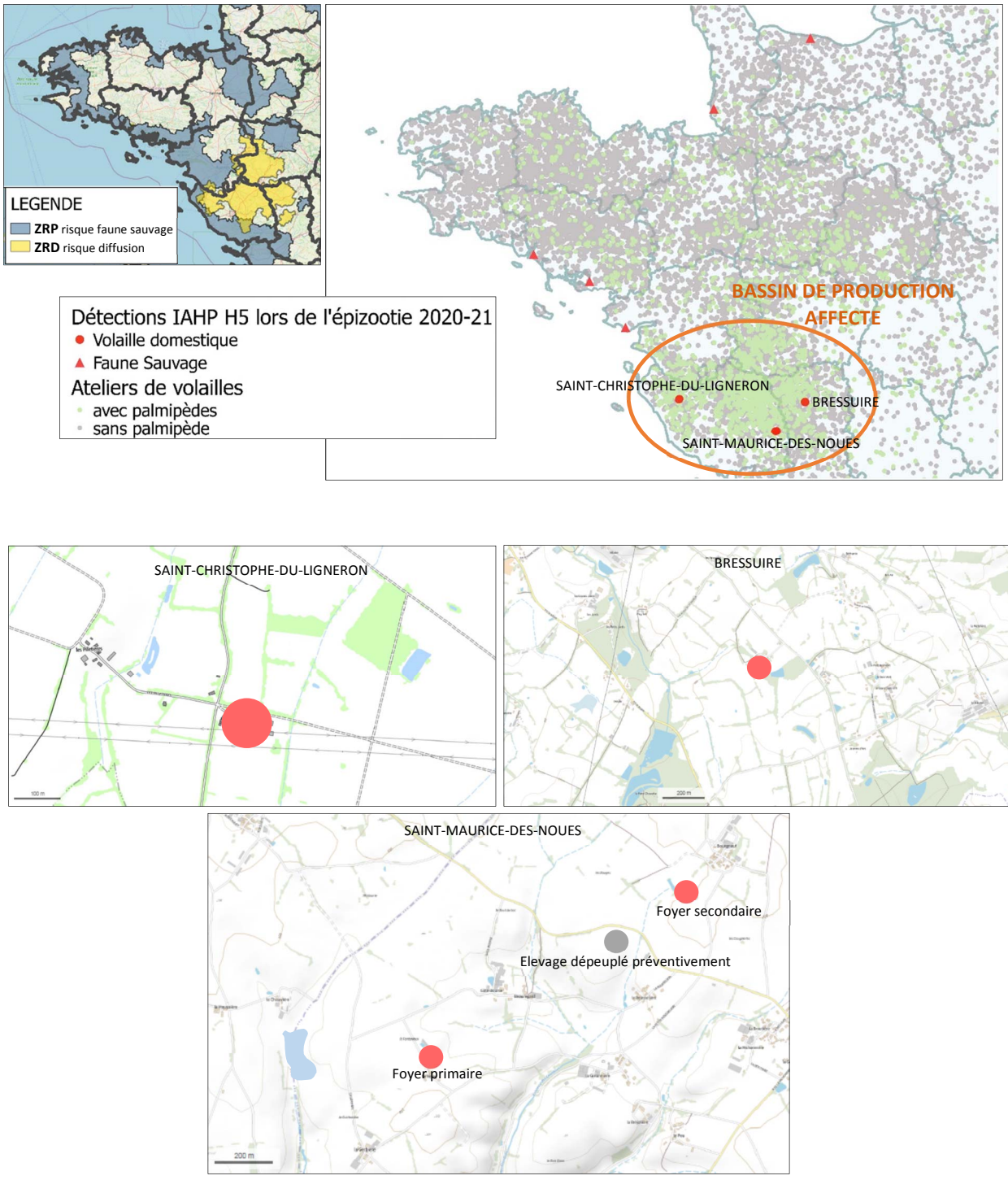
REMERCIEMENTS

Nous remercions l'ensemble des personnels des laboratoires agréés impliqués dans le dépistage des foyers, les agents des DD(CS)PP de Vendée et des Deux-Sèvres pour leur collaboration majeure à ce travail et en particulier M. Venet et Mme Delizy (DDPP85) ainsi que M. Cousin et M. Saunders (DDETSPP79).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Briand F.-X. et al. 2022, JRA 2022 : en cours de parution.
Guinat et al. 2019, Sci Rep.;9(1):6177.
Scoizec A. et al. 2018. Front Vet Sci. 13;5:15.
Asadi et al. 2020. Nat. Commun. 18;11(1):4062
Boender et al. 2007. Prev. Vet. Med. 82(1-2): 90-101.

Figure 1. Localisation des foyers en élevages de volailles détectés dans le Grand-Ouest lors de l'épizootie IAHP H5N8 de 2020-21 et leur contexte géographique



MAITRISER LE RISQUE DE DIFFUSION DE L'INFLUENZA HAUTEMENT PATHOGENE ENTRE LES ELEVAGES DE VOLAILLES : EXEMPLE DE LA ZONE VENDEE-DEUX-SEVRES LORS DE L'EPIZOOTIE D'IAHP H5N8 DE 2020-2021 EN FRANCE

Scoizec Axelle[1], Huneau-Salaün Adeline[1], Souillard Rozenn[1], Thomas Rodolphe[1], Schmitz Audrey[1], Briand François-Xavier[1], Massin Pascale[1], Martenot Claire[1], Cherbonnel-Pansart Martine[1], Allée Chantal[1], Rachel Busson[1], Guillemoto Carole[1], Louboutin Katell[1], Pierre Isabelle[1], Souchaud Florent[1], Niqueux Eric[1], Grasland Béatrice[1], Mourrieras Christophe[2] et Le Bouquin-Leneveu Sophie[1]

[1] Anses – Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, BP 53, 22440 Ploufragan,
[2] DDPP85– 85000 La Roche Sur Yon, France
axelle.scoizec@anses.fr

CONSTAT : 4 foyers d'IAHP détectés en élevages en Vendée-Deux Sèvres non suivis de diffusion massive dans ce bassin très dense d'élevages de volailles

Bassin de production de volailles **plein air**

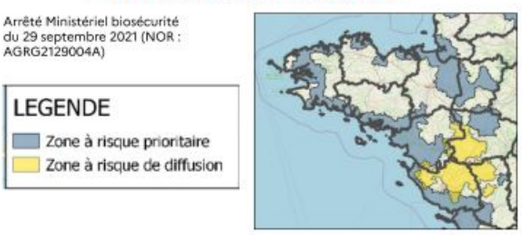
Bassin de production de **palmipèdes** (gras et à rôtir)

Densités élevées de volailles et d'ateliers de volailles

Mouvements de canards inter-exploitations

Une zone à risque élevé d'introduction et de diffusion

Arrêté Ministériel biosécurité du 29 septembre 2021 (NOR : AGRG2129004A)



Bassin avec 250 communes en Zone à **risque particulier d'IA lié aux oiseaux sauvages**

Bocage avec de **très nombreux plans d'eau**

Acteurs du secteur de la volaille

Services de l'Etat

Une mobilisation des acteurs pour prévenir le risque



Application +++ des **mesures de claustration ou de mises sous filets**

Relais des informations d'**alerte** auprès **des éleveurs** par les organismes professionnels

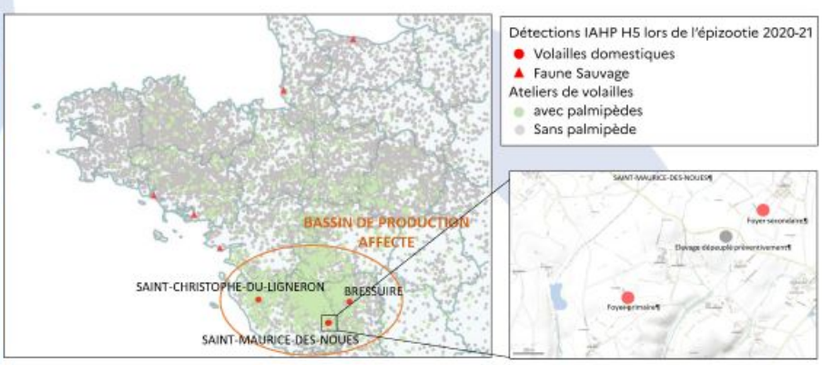
Résultats des analyses phylogéniques et épidémiologiques

3 foyers primaires =
3 introductions distinctes
2 en Canards à rôtir
1 en Canards reproducteurs

Hypothèse majeure de contamination **contact indirect avec l'environnement contaminé par l'avifaune sauvage,** à la faveur d'une rupture dans la biosécurité appliquée quotidiennement

1 foyer secondaire
En élevage de pintades/poulets
À 1,5km du foyer primaire
(Commune de Saint-Maurice des Noues)

Hypothèse majeure de contamination **exposition à des aérosols ou des poussières contaminées** émises dans l'environnement à la faveur des opérations de dépeuplement **du foyer primaire**



Une gestion rapide, réactive et concertée

Dépeuplement rapide des foyers (1 à 3 jours après la détection)

Surveillance par prélèvements pour analyses virologiques de **tous les ateliers de volailles dans les 3km** autour des foyers et de **toutes les bassecours** à proximité des foyers

Concertation des Services de l'Etat avec les organisations professionnelles

Dépeuplement préventif d'un élevage de 36 500 poulettes futurs pondeuses suite à la détection du foyer secondaire

Prévention de nouvelles introductions dans les zones de contrôles vendéennes par **diminution des densités d'ateliers de volailles pleins** :
Départ anticipé de lots de volailles vers les abattoirs
⇒ **Baisse de densités de volailles d'environ 50% sur les deux zones vendéennes**
(population initiale totale estimée à 3,2 millions de volailles)

LES CLES DE LA MAITRISE

- Application **+++ des mesures préventives**
- **Délais réduits** entre suspicion et dépeuplement
- **Gestion réactive** : dépeuplement préventif
- **Diminution +++ des densités** de volailles et d'ateliers de volailles

RESULTAT D'UNE COLLABORATION FORTE ETAT / PROFESSIONNELS



POINTS À AMÉLIORER

Mode de dépeuplement
qui génère un important nuage de poussières, de plumes porteuses du virus vers l'extérieur = risque de diffusion par voie aéroportée à courte distance (1 km)

Le dépeuplement préventif
des plus proches voisins d'un foyer primaire pourrait être appliqué sans attendre la détection d'un foyer secondaire

QUELS OUTILS ET DEMARCHES UTILISES PAR LES ELEVEURS POUR PILOTER LA SANTE EN ELEVAGE EN FILIERE AVICOLE ?

Dufay-Lefort Anne-Christine[1], Travel Angélique[1], Poissonnet Alexandre[2], Hemonic Anne[2], Sigwalt Annie[3], Defois Justine[3], Di Bianco Soazig[3], Manoli Claire[4], Kaufmann Pierre[5], Maupertuis Florence[6], Dilé Benoît[5], Leblanc-Maridor Mily[7], Waché Aurore[8]

[1]ITAVI - 7, Rue Faubourg Poissonnière – 75009 PARIS
[2]2 IFIP, La Motte au Vicomte, 35650 Le Rheu
[3]Ecole Supérieure d'Agricultures d'Angers, unité LARESS, 55 rue Rabelais 49007 Angers
[4]Ecole Supérieure d'Agricultures d'Angers, Unité URSE, 55 rue Rabelais, 49007 Angers
[5]FRGTV, 74 rue Emmanuel Dufourd, 53240 Andouillé
[6]Chambre d'Agriculture des Pays de la Loire, BP70519 9 rue Brouard, 49105 Angers
[7]BIOEPAR, INRAE, Oniris, 44307, Nantes
[8]Institut de l'élevage, 42 rue Georges Morel -CS 60057- 49071 Beaucouzé Cedex
lefort@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

L'objet du projet UniFilAnim Santé en région Pays de la Loire est de donner des clés aux éleveurs pour améliorer le pilotage de la santé animale, en collaboration avec leurs conseillers (techniciens, vétérinaires, chambre d'agriculture…), en s'inspirant entre filières de production dans un objectif de progrès collectif.

Deux questionnaires en ligne ont d'abord été remplis par mail principalement par des intervenants en élevages porcins, avicoles et ruminants, à l'échelle nationale. Il leur était demandé de lister puis de détailler tous les outils et/ou démarches que les éleveurs utilisent pour piloter la santé des animaux. Ceux-ci ont pu être classés en cinq groupes. Lors de focus groups composés d'éleveurs et/ou de conseillers, ces outils ont été présentés et leur utilisation discutée.

Les résultats communs aux trois filières montrent que les éleveurs s'appuient principalement au quotidien sur des indicateurs « sensoriels » et immédiats (odeur, vue, son…), alors que les conseillers utilisent des outils de suivi rétrospectifs, chiffrés. Le manque d'interopérabilité des outils et l'importance des échanges entre les éleveurs eux-mêmes et avec leurs conseillers sont soulignés.

En filière avicole, les éleveurs échangent très fréquemment sur la santé avec leur technicien ou vétérinaire, mais à la différence des autres filières, ils souhaiteraient être plus au fait de nouvelles solutions techniques et pratiques et avoir un pouvoir de décision plus important pour les mettre en œuvre. Deux pistes d'amélioration, en cours de test sur le terrain, sont évoquées : davantage d'échanges avec leurs pairs au travers de réunions participatives et la co-construction d'un rendez-vous annuel de santé entre l'éleveur et ses différents conseillers.

ABSTRACT

What tools and approaches are used by farmers to manage health in poultry farming?

The purpose of the UniFilAnim Santé project in the Pays de la Loire region is to provide farmers with the keys to improving animal health management, in collaboration with their advisors (technicians, veterinarians, chambers, etc.), by drawing inspiration from other production sectors with the aim of collective progress.

A questionnaire was first sent by e-mail to advisors in pig, poultry and cattle farming, on a national scale. They were asked to detail all the tools or approaches they use on their farms to assess animal health. These were classified into five groups. During focus groups with farmers and/or advisors, these tools were presented and their use discussed.

The results common to all three sectors show that farmers rely mainly on immediate "sensory" indicators (smell, sight, sound, etc.) on a daily basis, while advisors use more elaborate retrospective monitoring tools with figures. The lack of interoperability of the tools and the importance of exchanges between the farmers themselves and with their advisors were underlined.

In the poultry sector, farmers frequently discuss health issues with their technicians or veterinarians, but unlike in other sectors, they would like to be more aware of new technical and practical solutions and to have more decision-making power to implement them. Two suggestions of improvement, currently being tested in the field, were mentioned: more exchanges with their peers through participative meetings and the co-construction of an annual health meeting between the breeder and his various advisors.

INTRODUCTION

Le contexte sanitaire des élevages est en évolution : des pressions sociétales, techniques et économiques se conjuguent pour demander une diminution du recours aux antibiotiques en élevage. L'apparition de résistances à ces antibiotiques, a rendu nécessaire un changement d'approche sanitaire dans les élevages vers une démarche davantage axée sur la prévention.

Dans ce contexte, le pilotage de la santé par l'éleveur accompagné par ses conseillers (vétérinaire, technicien, formateurs…) est essentiel, que ce soit pour prévenir l'apparition des maladies ou pour les détecter et les traiter le plus précocement possible. De nombreux outils et démarches pour piloter la santé existent en production porcine, avicole et ruminants (bovins et petits ruminants). Ils se présentent sous plusieurs formats : audits (Itavi et coll., 2021), suivi technique, accompagnement de l'éleveur (Rousset et coll., 2019), outils numériques ou simplement un carnet de notes. Mais peu de démarches sont partagées et mutualisées entre ces trois filières animales.

Le projet UniFilAnim Santé a pour objectif d'apporter aux éleveurs des clés pour améliorer leur pilotage de la santé en s'inspirant des modèles des autres filières, en procédant par étapes :

- Recenser les outils et les démarches de pilotage de la santé/du bien-être existants et leur niveau d'utilisation/appropriation actuel
- Consulter les acteurs de chaque filière (éleveurs, intervenants) pour cibler les contraintes et faire émerger de nouvelles idées
- Sélectionner et tester des démarches d'accompagnement des éleveurs par filière à partir des résultats des consultations
- Co-construire des guides pour l'élaboration de ces démarches.

Cet article présente le recensement des outils existants sur le terrain par filière et les résultats de la consultation des éleveurs.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1 Recensement des outils auprès des intervenants

1.1.1 Collecte des données

Un premier questionnaire ayant pour but de recenser les outils de pilotage de la santé a été envoyé par mail aux intervenants en élevages porcins, avicoles et ruminants (vétérinaires, techniciens, GDS, chambres d'agriculture, contrôle laitier…), à l'échelle nationale, à partir de listes de contacts des partenaires du projet. Ils étaient invités à citer spontanément les différents outils utilisés par les éleveurs pour piloter la santé des animaux. Ensuite, une partie des participants a été recontactée pour remplir un deuxième questionnaire dans lequel ils pouvaient compléter leur liste en ajoutant d'autres outils pré-listés qu'ils auraient pu omettre en première intention (Gestion Technico-économique (GTE), audits, groupes d'échanges, etc.). Pour chaque outil, le répondant devait renseigner sa finalité (biosécurité, performances zootechniques, reproduction, etc.), son contexte d'utilisation (bilan périodique versus ponctuel), la source de l'information (éleveur, technicien, vétérinaire), le type de collecte des données (facultative ou obligatoire, automatique ou manuelle.

1.2 Consultation des éleveurs

Huit focus-groups ont ensuite été réalisés avec des éleveurs des Pays de la Loire en production avicole, porcine, bovin viande, bovin lait et petits ruminants.
Lors de ces réunions animées par une sociologue, les éleveurs ont :
1) expliqué comment et avec quels outils ils pilotaient la santé dans leur élevage ;
2) élaboré un schéma de leurs relations avec les conseillers impliqués dans la gestion sanitaire de l'élevage ;
3) classé leurs propres outils dans les catégories définies dans la première partie de l'étude ;
4) échangé sur leur perception et leur utilisation du Bilan Sanitaire d'Elevage (BSE).

2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.1 Sondage des intervenants

179 conseillers en élevage (vétérinaires, GDS, contrôleurs laitiers, techniciens de groupement, salariés de coopératives, fabricants d'aliments, ou instituts techniques) ont répondu au questionnaire. Pour la filière avicole, les répondants étaient des vétérinaires, des techniciens d'organisations de production, et sélectionneurs.
129 outils de pilotage de la santé ont été cités dont : 51 en filières ruminants, 66 en filières monogastriques et 12 concernaient l'ensemble des filières. 34 indicateurs ont été cités pour la filière avicole (certains d'entre eux pouvant être communs à plusieurs filières).

Cinq catégories d'outils ont pu être décrites dans le Tableau 1.

- Les outils et démarches imposés à l'éleveur par la règlementation, ou par un cahier des charges (production sous signe de qualité, cahier des charges distributeur/client). Bien qu'imposés, ils permettent le recueil d'informations utiles pour le pilotage de la santé. Par exemple, le registre d'élevage garde la traçabilité des maladies et des traitements survenus dans l'élevage.
- Les outils qui permettent la création de références nationales : ils sont plus destinés

aux conseillers qu'aux éleveurs. A noter, dans cette catégorie, les répondants ont cité parfois des indicateurs plutôt que des outils. Par exemple, IFTA et ALEA, font référence à la surveillance des usages d'antibiotiques dans les élevages.

- Les informations apportées par l'abattoir ou par des laboratoires : ce sont des informations destinées plutôt aux conseillers (en particulier vétérinaire). Elles permettent par exemple d'orienter le diagnostic, aider au choix d'un traitement (ex : antibiogramme) Les données d'abattoir (en particulier sur les saisies) permettent de mettre en lumière certains problèmes de l'élevage non directement visibles par l'éleveur. Le conseiller pourra s'appuyer sur ces éléments pour établir des préconisations d'amélioration des pratiques dans l'élevage.

- Les outils ou démarches de type bilan/audit/pilotage que l'éleveur peut mettre en place seul ou avec l'aide de ses conseillers : cette catégorie est celle qui regroupe le plus de réponses et sera développée ci-après.

- Les groupes d'échanges et de formation, permettant aux éleveurs d'échanger entre pairs. On notera la rareté des groupes d'échanges cités, en particulier en aviculture (le seul cité étant en réalité une plateforme de formation en ligne).

Les outils ou démarches de type bilan/audit/pilotage de la santé qui ont été cités peuvent concerner l'éleveur seul (par exemple, en aviculture, la gestion de l'ambiance avec le boitier de régulation), ou l'éleveur et le ou les conseillers (comme le bilan sanitaire d'élevage, l'audit sanitaire ou bien-être).

Ils peuvent cibler l'élevage dans sa globalité (bilan sanitaire d'élevage, analyse des données technico-économiques) ou seulement certains aspects (audit biosécurité, analyse des factures de médicaments), ou même s'inscrire dans un contexte plus large d'accompagnement global de l'éleveur qui inclut un volet gestion de la santé.

L'accessibilité des outils aux éleveurs n'est pas la même pour tous : certains outils sont privés, leur utilisation étant restreinte à l'intérieur d'une seule organisation de production, ou d'un seul réseau de vétérinaires

Enfin, certains outils sont accessibles à tous mais sont payants.

On peut remarquer que les outils de pilotage de la santé cités par les conseillers font référence, pour la plupart, à un pas de temps qui varie de la durée d'un lot à une ou plusieurs années.

Il est important de noter que les critères sensoriels qui seront cités par les éleveurs dans les focus groups (voir 2.2) ne figurent pas dans ces différentes catégories.

2.2 Consultation des éleveurs

Les focus groups, organisés par filière, ont regroupé 10 éleveurs de porcs, 22 de volailles, 6 de bovins lait, 8 de bovins viande et 7 de petits ruminants. Les échantillons d'éleveurs interrogés étaient volontairement de petite taille car l'objectif des focus groups était de mener une enquête qualitative approfondie et de tester des hypothèses sur le pilotage de la santé, sans viser une généralisation à plus large échelle.

Ces réunions ont mis en évidence une différence entre les outils utilisés par les éleveurs et ceux cités par les intervenants. Les éleveurs ont avant tout cité l'importance d'indicateurs sensoriels (ouïe, odorat, vue) ou de conduite d'élevage (évolution de la consommation d'eau, d'aliment) pour détecter une différence de comportement des animaux, de santé ou d'ambiance du bâtiment par exemple. Par contre, ils ont peu évoqué les outils recensés par les intervenants.

Cette différence s'explique notamment par le fait que les éleveurs utilisent plutôt des outils à mettre en place au quotidien, directement dans leur élevage, pour une détection rapide d'un changement qui enclencherait une action rapide de correction. Les éleveurs de volailles, en particulier, raisonnent la santé animale à l'échelle du lot et non de manière individualisée. La gestion de la santé passe pour eux avant tout par de l'anticipation des problèmes sanitaires qui pourraient survenir.

A contrario, les intervenants font davantage des bilans périodiques à partir de données enregistrées en élevage, en abattoir, aux laboratoires, etc. L'utilisation de ce type de bilans est davantage évoquée par les éleveurs de porcs et volailles en particulier les GTE-GTTT (dont il n'existe pas d'équivalents en ruminants).

Le manque d'interopérabilité entre les différents outils a été largement signalé par la majorité des éleveurs. En volaille, plus particulièrement, certains vétérinaires déplorent n'avoir plus qu'une vision partielle des données techniques d'élevage car elles sont enregistrées dans des logiciels partagés avec l'organisation de production, accessibles via un smartphone ou un ordinateur et non plus sur une feuille de papier, et auquel ils ont peu ou pas accès.

L'analyse des interactions de l'éleveur avec ses conseillers met aussi en lumière des différences en fonction des filières (Tableau 2). Cela varie selon

1) le niveau d'intégration de la filière (très fort en volailles),

2) l'expertise du conseiller sur les questions de santé animale,

3) le niveau de confiance que les intervenants parviennent à établir avec l'éleveur.

Ces résultats sont issus de l'analyse des propos des éleveurs durant les focus groups : ils sont une traduction imagée de résultats qualitatifs, visant à cerner les différences existantes entre filières en matière de relation entre éleveurs et intervenants sur la santé animale.

Le niveau d'interaction a été classé selon 4 niveaux: (nul=-, faible=+, moyen=++, important=+++.

Par exemple, les éleveurs de bovins viande et de petits ruminants répondent à leurs questions sanitaires essentiellement à partir d'échanges entre pairs, déplorant la rareté des intervenants spécialisés et qualifiés dans leur filière.

Les éleveurs de volailles apprécient les échanges réguliers et efficaces qu'ils entretiennent très fréquemment avec leur technicien et leur vétérinaire, qui sont les deux conseillers cités en premier. En revanche, ils souhaiteraient être plus au fait de nouvelles solutions techniques et pratiques et avoir plus de latitude pour les mettre en œuvre. Ils regrettent d'avoir un pouvoir de décision trop limité à cause du fort niveau d'intégration des organismes de production, et ils souhaiteraient davantage d'échanges entre pairs, issus d'organisations de productions différentes.

Les éleveurs de porcs et de bovins laitiers se distinguent par leur relative autonomie à piloter la santé sur leur exploitation. La grande majorité des interventions se font sans la présence ou l'appel des conseillers, en se basant sur le protocole de soins et l'expérience. Ils sollicitent eux-mêmes les conseillers lorsqu'ils l'estiment nécessaire. Le « degré de liberté» de l'éleveur pour modifier ses pratiques dépend également du type de cahier des charges dans lequel il est impliqué (agriculture biologique, label rouge, sans antibiotiques, etc.).

Enfin, dans l'ensemble des filières, le Bilan Sanitaire d'Elevage est perçu de manière très variable par les éleveurs, certains bénéficiant d'un véritable bilan d'ensemble des évènements sanitaires de l'élevage au cours de l'année pendant plusieurs heures, assorti d'une réflexion conjointe les menant à s'entendre sur des pistes d'amélioration et un plan d'action, quand d'autres en ont une expérience courte et superficielle, dont ils retiennent la dimension procédurière et l'associent à une opportunité commerciale des vétérinaires.

CONCLUSION

Concernant les outils et démarches de pilotage de la santé en élevage, on note des similitudes entre filières :

- les outils cités par les conseillers et les éleveurs sont différents, et dépendent des filières et du niveau d'équipement et de technicité de l'éleveur,
- l'importance des échanges entre les éleveurs eux-mêmes
- le manque d'interopérabilité des outils.

En revanche, le niveau d'autonomie de l'éleveur, et la disponibilité de conseillers qualifiés sont différents selon les filières.

Pour la suite du projet, plusieurs outils ou démarches d'accompagnement des éleveurs pour le pilotage de la santé vont être testés : groupes d'échanges, rendez-vous annuels multi-acteurs sur la santé et vidéos.

REMERCIEMENTS

Cette étude est co-financée par la Région des Pays de la Loire et l'Union Européenne dans le cadre d'un projet PEI (Projet Européen pour l'Innovation)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ITAVI et coll, 2021. J'évalue la biosécurité sur mon exploitation de volailles de chair, site Internet ITAVI, publié en mars 2021, ficher excel, 11 onglets.
2. Rousset N., Scoizec A., Le Bouquin S, 2019. : La démarche d'accompagnement participative appliquée à la biosécurité en aviculture. Que peut-on retenir de l'expérience du projet PartAge ? Tema Juillet-Août-Septembre 2019 n°59

Catégories des outils utilisés pour le pilotage de la santé	Exemples d'outils cités dans la filière avicole par les conseillers	Source
Outils « obligatoires » (réglementation, cahiers des charges)	Registre d'élevage, bordereau d'abattoir, analyse d'eau, Fiches ICA, Carnet sanitaire d'élevage	Conseillers
Outils permettant la création de références collectives	IFTA, ALEA(indicateurs) Indicavet	
Données d'abattoirs et de laboratoires d'analyse	Antibiogrammes, Phytogramme®, Resanalyse	
Outils mis en place en élevage, par l'éleveur seul ou avec l'aide de conseillers (audits, logiciels d'élevage)	Bilan Sanitaire d'élevage Audit biosecurité (PULSE) Audit bien-être (EBENE, Tibena) GTE, Gestion technico-économique Analyse des factures de médicaments Boitier de régulation bâtiment Alterbiotique® (approche d'accompagnement globale)	
Groupes d'échanges et de formations	Elea Vet (plateforme payante de e-learning)	

Tableau 1. Catégorisation des outils et démarches mis en place dans les élevages, cités par les conseillers

	Bovins lait	Bovins viande	Petits ruminants	Volailles	Porcs
Proximité relationnelle avec les conseillers en élevage	+	+ ou -	+	+++	++
Fréquence des interventions du vétérinaire	+++	+++	-	+++	++
Autonomie de l'éleveur pour prendre les décisions techniques	+++	++	+++	-	+++
Evaluation de l'encadrement technique selon l'éleveur : spécialisation, accessibilité et qualité des conseillers	+++	+	+	+++	+++

Tableau 2 - Evaluation des relations entre les éleveurs et les conseillers en élevage

BIO-ACCUMULATION DE LA FUMONISINE B1 CHEZ LE POULET ET EFFET D'ARGILE INTERCALEE PAR DES ALGUES SUR CETTE ACCUMULATION

J. Laurain[1], D. Tardieu[2], M. Matard-Mann[1], M. Angeles Rodriguez[1], Rim Boulmane[1] et P. Guerre[2]

[1]Olmix S.A., ZA du Haut du Bois, 56580 Bréhan, France,
[2]ENVT, Université de Toulouse, 23 chemin des Capelles, 31076 Toulouse, France
philippe.guerre@envt.fr

RÉSUMÉ

Les fumonisines sont des mycotoxines de répartition mondiale pour lesquelles des teneurs maximales sont recommandés dans l'alimentation animale. Chez la volaille, la toxicité de ces composés se manifeste aux faibles doses par une atteinte hépatique et des chutes de performances. La toxicocinétique des fumonisines se caractérise par une faible absorption orale et une élimination plasmatique rapide. Pour ces raisons, on considère que les fumonisines ne s'accumulent pas chez les animaux, y compris les volailles. Cependant, des études récentes sur le poulet et la dinde ont montré que, chez ces espèces, le temps de demi-élimination hépatique de la fumonisine B1 (FB1) était de plusieurs jours, ce qui suggère que la FB1 peut s'accumuler dans l'organisme. Les objectifs de cette étude sont de valider cette hypothèse et de mesurer l'effet d'un adsorbant à base d'argile intercalée grâce à des extraits d'algues (brevet EP2674397) appelée algoclay technology (AC) sur cette accumulation. Des poulets âgés de 21 jours ont reçu une dose considérée comme non toxique d'environ 20mg de FB1+FB2/kg d'aliments. Les mesures effectuées après 4 et 9 jours d'exposition ont révélé une augmentation des concentrations en sphinganine (Sa) et sphingosine (So) dans le foie, sphingolipides utilisés comme biomarqueurs d'exposition aux fumonisines, sans signe de toxicité ni altération de performances. Le dosage de la FB1 a été réalisé par UHPLC-MS/MS dans le foie et les muscles après purification des échantillons sur colonne d'immuno-affinité. La FB1 s'est accumulée dans le foie des poulets exposés durant 4 à 9 jours, avec des concentrations respectives de 20,3 et 32,1 ng/g. De même, les teneurs en FB1 dans les muscles ont augmenté de 0,036 à 4j à 0,072 ng/g à 9 jours. L'administration de cette argile intercalée grâce à des extraits d'algues (AC) a permis de réduire l'accumulation de FB1 de 40% dans le foie et de 50% dans les muscles au 9ème jour d'exposition. La diminution de la concentration en FB était accompagnée d'une diminution des teneurs en Sa et en So dans le foie. En conclusion, cette étude montre pour la première fois que les fumonisines sont bioaccumulables et que l'administration d'argile modifiée grâce à des extraits d'algues permet de diminuer cette accumulation.

ABSTRACT

Bioaccumulation of fumonisins in broilers tissue with or without intercalated clay with algae extract

Fumonisins are mycotoxins found worldwide for which maximum levels are recommended in animal feed. In poultry, the toxicity of these compounds occurs at low doses by liver damage and decreased performance. The toxicokinetic of fumonisins are characterized by poor oral absorption and rapid elimination from plasma. It was thus long considered that fumonisins (FB) don't accumulate in animals. Nevertheless, recent studies in poultry demonstrated that the hepatic half-elimination of fumonisin B1 (FB1) was up to several days suggesting that fumonisins can accumulate in animal tissues. Based on this latest research the aim of this study was to evaluate fumonisins deposit in broiler tissues and to evaluate the effect of an algo-clay on that accumulation. 21day old broilers were slaughtered after being fed a diet with 20 mg FB1+FB2/kg (considered as nontoxic) during 4 or 9 days prior to slaughtering. No sign of toxicity was observed on performances at this level of FB in feed, but increased concentrations of sphinganine (Sa) and sphingosine (So), used as biomarker of exposure, over time in liver were measured. An accumulation resulting from 4 to 9 days of exposure of FB1 was measured in liver with concentrations of respectively, 20.3 and 32.1 ng FB1/g observed at these two exposure periods. Even if FB1 level were very low in breast muscles, an accumulation could also be observed after 4 days to 9 days exposure with concentrations of 0.036 and 0.072 ng FB1/g, respectively. When feeding intercalated clay with algae extract, algoclay (AC) a significant reduction of FB1 accumulation was measured in liver and muscle by respectively, around 40 and 50% after 9 days of exposure. Broilers fed AC also showed a decrease in Sa and So contents in the liver compared to the levels of Sa and So measured in broilers fed FB alone after 9 days exposure. To conclude, this study highlights for the first time that fumonisins can accumulate in animals' tissues and that the inclusion of modified clay (with algae) allows to reduce this accumulation.

INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par les moisissures qui peuvent contaminer les aliments consommés par les animaux et l'homme. Il est estimé que 25% de la production mondiale de céréales est contaminée en mycotoxines pendant la récolte, le transport, le stockage et la transformation (FAO 2003). Il existe 6 grands types de mycotoxines réglementées dans les aliments : aflatoxines, ochratoxines, déoxynivalénol, Toxine T2 et HT2, zéaralénone et fumonisines. Parmi ces dernières, les fumonisines du groupe B (FB) sont les plus répandues et les plus étudiées, et parmi elles, la fumonisine B1 (FB1) et dans une moindre mesure la fumonisine B2 (FB2) sont les plus abondantes et les plus toxiques (Voss *et al.*, 2007, Scott *et al.*, 2012 ; Guerre *et al.*, 2016 ; Knutsen *et al.*, 2018).

Chez les mammifères, la toxicité des fumonisines et les manifestations cliniques varient fortement selon l'espèce, la dose, et la durée de l'exposition (Knutsen *et al.*, 2018 ; Diaz *et al.*, 1994 ; Riley *et al.*, 2019). Chez l'homme, la consommation de FB a été associée à une incidence accrue de cancer de l'œsophage, conduisant le Centre international de recherche sur le cancer à classer les FB dans le groupe 2B, comme « possible cancérogène pour l'homme » (IARC 2002). Une dose journalière tolérable en FB pour la consommation humaine a été établie, et des niveaux maximaux tolérables en FB ont été fixés dans les aliments pour animaux ainsi que dans les matières premières destinées à la consommation animale (Knutsen *et al.*, 2018 ;WHO 2011). Afin de diminuer les effets négatifs des mycotoxines chez l'animal, la commission européenne a défini en 2009 une nouvelle catégorie d'additifs visant à la réduction de la contamination en mycotoxines des aliments ((EC) No 386/2009)) utilisable dans des contextes de faibles/moyennes contaminations ((EC) No 576/2006)).

L'un des paradoxes lié à la toxicité des FB concerne la relation entre leur toxicité et leur toxicocinétique. En effet, la plupart des études sur les animaux ont conclu que la toxicité des FB est cumulative (Knutsen *et al.*, 2018 ; Diaz *et al.*, 1994). Chez les espèces aviaires, l'exposition prolongée de canards et de dindes à de faibles doses de FB a entraîné une augmentation progressive de la sphinganine (Sa) et de sphingosine (So) dans le foie, Sa et So étant des marqueurs reconnus d'exposition et de toxicité des FB (Tardieu *et al.,* 2006 ; Benlasher *et al.*, 2012). Cependant, les études de toxicocinétique menées chez les espèces aviaires et chez les mammifères ont révélé que les FB sont rapidement éliminées du sang, ce qui apparait contradictoire avec une toxicité de type cumulatif (Knutsen *et al.*, 2018 ; Guerre *et al.,* 2015).

L'objectif de cette étude est de mesurer l'accumulation de fumonisines dans le foie et les muscles chez le poulet de chair et d'évaluer l'efficacité d'argile intercalée grâce à des extraits d'algues (Technologie algoclay, AC) pour réduire cette accumulation. Ces études ont été conduites avec un aliment naturellement contaminé à 20 mg FB1 + FB2/kg, niveau maximal recommandé par l'Union Européenne.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Schéma expérimental

L'essai a été réalisé au sein de la station expérimentale de Cebiphar (37 230 Fondettes, France). Un total de 70 poulets de chair a été divisé en 7 groupes (Tableau 1). L'allotement a été réalisé à 10 jours d'âge pour garantir une homogénéité de poids au démarrage de l'exposition. Les poulets de chair étaient soit exposés aux fumonisines (FB) seules, soit à AC seule, soit aux fumonisines et à l'AC (FB + AC), pendant 4 ou 9 jours avant l'abattage à 21 jours d'âge.

Les aliments contaminés ont été produits par Tecaliman (44 323 Nantes, France) à partir d'un maïs fortement contaminé en fumonisines pour obtenir une concentration finale dans l'aliment de 20 mg FB1+FB2/kg. L'AC a été incorporé dans les aliments à la concentration de 450 mg/kg. Les aliments ont été formulés sur une base maïs et soja et ont été distribués, ainsi que l'eau, à volonté. La contamination en mycotoxines de tous les aliments a été analysée en chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (LC MS/MS). Les mycotoxines autres que les fumonisines n'ont pas été quantifiées à des niveaux significatifs.

1.2. Performances zootechniques

Des pesées individuelles des poulets ont été réalisées aux jours 1, 10, 17 et 21. La consommation d'aliment a été mesurée sur les périodes allant des jours 6 à 12 puis 13 à 16 et enfin 17 à 21.

1.3. Fumonisines dans le foie et dans le muscle pectoral

Des fractions de foie et muscles ont été collectées à l'abattage et stockées à -80°C jusqu'à analyse. La teneur hépatique des bases sphingoïdes a été mesurée en fluorescence après séparation HPLC et dérivatisation avec de l'orthophtaldialdéhyde (Tran *et al.*, 2003).

La concentration en FB1 et FB2 dans les tissus a été déterminée par UHPLC-MS/MS après incorporation d'isotopes marqués et purification des échantillons par immuno-affinité (Tardieu *et al.*, 2019).

1.4 Analyses statistiques

Les données expérimentales ont été analysées par ANOVA (XLSTAT).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Aucun effet sur les performances (consommation d'aliments, croissance, et indice de consommation) et aucune altération de santé (biochimie non spécifique, analyse macroscopique des organes à l'autopsie) n'a été observée dans cette étude.

2.1 Bases sphingoïdes

La teneur en sphinganine (Sa) et sphingosine (So) a été mesurée dans les foies pour révéler les effets de la FB sur le métabolisme des sphingolipides, et calculer le rapport Sa/So (Tableau 2). L'aliment contaminé en FB distribué pendant neuf jours a entraîné une augmentation significative de la teneur en Sa et So dans le foie par rapport aux témoins non exposés. Cette augmentation a été significativement plus faible chez les poulets nourris avec l'aliment FB+AC que chez les poulets nourris avec l'aliment contaminé seul. A quatre jours d'exposition, aucune différence significative du rapport Sa/So n'a été observée entre le groupe nourri avec l'aliment FB+AC et le groupe nourri avec l'aliment FB seul.
Les effets de la FB sur Sa, So et Sa/So sont en accord avec la plupart des données de la littérature sur les poulets de chair nourris à ce niveau en FB dans l'aliment (Metayer *et al.*, 2019 ; EFSA 2005). En effet, une augmentation à la fois de la teneur en Sa et So est considérée comme une conséquence de l'inhibition des céramides synthases due à la FB : les niveaux de la So augmentent généralement moins et plus tard que ceux de la Sa (Riley *et al.*, 2019).

2.2 Fumonisines dans le foie

Les concentrations en FB1 dans les foies de poulets nourris avec l'aliment FB et FB+AC sont présentées dans la figure 1. Une concentration moyenne en FB1 de 20,3 ng/g dans le foie a été observée chez les poulets nourris avec l'aliment FB pendant quatre jours. Cette concentration passe à 32,1 ng/g après neuf jours d'exposition. Cette différence entre les deux groupes était significative. Bien que plusieurs études aient déjà rapporté la présence de FB1 dans le foie de poulets exposés, il s'agit de la première étude qui démontre que la FB1 peut s'accumuler dans le foie quand la durée de l'exposition augmente.
La preuve de l'accumulation de la FB dans le foie est surprenante compte tenu de son élimination plasmatique rapide (Knutsen *et al.*, 2018). En effet, chez les volailles, le temps de demi-élimination plasmatique de la FB1 varie de 70 à 214 min chez les poulets de chair, les poules pondeuses, les canards et les dindes. De même, des temps de demi-élimination de 12 et 32 min ont été rapportés pour la FB2 chez les dindes et canards (De Baere *et al.,* 2018). Toutefois, différents travaux préalables ont révélé que l'élimination hépatique de la FB1 pouvait prendre plusieurs jours, ce qui est en accord avec la mise en évidence de son caractère bio-accumulable dans cet organe (Fodor *et al.*, 2008 ; Tardieu *et al.*, 2021). Ces résultats sont par ailleurs cohérents avec la plupart des études menées sur la toxicité subaiguë des FB, qui ont montré que la toxicité des FB était cumulative (Voss *et al.,* 2007 ; EFSA 2005 ; Marasas *et al.,* 1988 ; Kellerman *et al.,* 1990). Ce travail suggère par ailleurs que l'accumulation tissulaire des FB pourrait conduire à une augmentation de l'exposition humaine à ces contaminants, les apports alimentaires par les produits animaux étant à ce jour considérés comme négligeables.
La distribution de l'aliment FB+AC, entraine une diminution non significative de la teneur en FB1 hépatique après quatre jours d'exposition, par rapport aux poulets nourris avec l'aliment FB seul. En revanche, après neuf jours d'exposition, la concentration dans le foie en FB1 chez les poulets nourris avec l'aliment FB+AC était de 18,6 ng/g contre 32,1 ng/g chez les poulets nourris avec l'aliment FB seul. Cette différence entre les deux groupes était significative. Ainsi, la supplémentation en AC a permis une diminution de 42% de la concentration en FB1 dans le foie par rapport à la concentration mesurée chez les poulets nourris avec l'aliment FB seul.

2.3 Fumonisines dans le muscle

La figure 2 montre les concentrations en FB1 dans le muscle chez les animaux nourris avec l'aliment FB et l'aliment FB+AC. Ainsi, on observe une augmentation de la teneur en FB1 dans le muscle au cours du temps chez les animaux nourris avec l'aliment FB passant de 0,047 ng/g à quatre jours d'exposition à 0,074 ng/g à neuf jours d'exposition. Cette différence entre ces deux groupes était significative. L'augmentation de la concentration dans le muscle lorsque la durée d'exposition augmente est cohérente avec ce qui a été observé dans le foie.
Pour ce qui est des poulets nourris avec l'aliment FB+AC, on observe une diminution non significative de la concentration en FB1 après quatre jours d'exposition par rapport aux poulets nourris avec l'aliment FB seul. En revanche, à neuf jours d'exposition, les concentrations en FB1 étaient de 0,035 ng/g chez les poulets nourris avec l'aliment FB+AC contre 0,074 ng/g chez les poulets nourris avec l'aliment FB seul. Cette différence entre les deux groupes était significative. Ainsi, comparativement aux poulets nourris avec l'aliment FB seul, la supplémentation en AC a permis une diminution de 53 % de la concentration en FB1 dans le muscle.

CONCLUSION

Cette étude est la première à démontrer une accumulation de fumonisines dans les tissus de poulet de chair abattus à 21 jours sans signe de toxicité ou baisse de performance. Cette accumulation peut être significativement réduite en présence d'argile modifiée grâce à des extraits d'algues (AC). De nouvelles études sont nécessaires pour confirmer cette accumulation au cours de plus longues périodes d'exposition et à différents âges à l'abattage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Benlasher, E.; Geng, X.; Nguyen, N.T.X.; Tardieu, D.; Bailly, J.-D.; Auvergne, A.; Guerre, P. Comparative Effects of Fumonisins on Sphingolipid Metabolism and Toxicity in Ducks and Turkeys. Avian Dis. 2012, 56, 120–127.

De Baere, S.; Croubels, S.; Novak, B.; Bichl, G.; Antonissen, G. Development and Validation of a UPLC-MS/MS and UPLC-HR-MS Method for the Determination of Fumonisin B1 and Its Hydrolysed Metabolites and Fumonisin B2 in Broiler Chicken Plasma. Toxins 2018, 10, 62.

Diaz, G.J.; Boermans, H.J. Fumonisin Toxicosis in Domestic Animals: A Review. Vet. Hum. Toxicol. 1994, 36, 548–555.

European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a Request from the Commission Related to Fumonisins as Undesirable Substances in Animal Feed. EFSA J. 2005, 235, 1–32.

Fodor, J.; Balogh, K.;Weber, M.; Miklós, M.; Kametler, L.; Pósa, R.; Mamet, R.; Bauer, J.; Horn, P.; Kovács, F.; et al. Absorption, Distribution and Elimination of Fumonisin B (1) Metabolites inWeaned Piglets. Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess. 2008, 25, 88–96.

Guerre, P. Fusariotoxins in Avian Species: Toxicokinetics, Metabolism and Persistence in Tissues. Toxins 2015, 7, 2289–2305.

Guerre, P.Worldwide Mycotoxins Exposure in Pig and Poultry Feed Formulations. Toxins 2016, 8, 350.

International Agency for Research on Cancer–IARC. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene; IARC: Lyon, France, 2002; 590p.

Kellerman, T.S.; Marasas, W.F.; Thiel, P.G.; Gelderblom, W.C.; Cawood, M.; Coetzer, J.A. Leukoencephalomalacia in Two Horses Induced by Oral Dosing of Fumonisin B1. Onderstepoort. J. Vet. Res. 1990, 57, 269–275.

Knutsen, H.; Alexander, J.; Barregård, L.; Bignami, M.; Brüschweiler, B.; Ceccatelli, S.; Cottrill, B.; Dinovi, M.; Edler, L.; EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); et al. Risks for Animal Health Related to the Presence of Fumonisins, Their Modified Forms and Hidden Forms in Feed. EFSA J. 2018, 16, e05242.

Marasas, W.F.; Kellerman, T.S.; Gelderblom, W.C.; Coetzer, J.A.; Thiel, P.G.; van der Lugt, J.J. Leukoencephalomalacia in a Horse Induced by Fumonisin B1 Isolated from Fusarium Moniliforme. Onderstepoort. J. Vet. Res. 1988, 55, 197–203.

Metayer, J.-P.; Travel, A.; Mika, A.; Bailly, J.-D.; Cleva, D.; Boissieu, C.; Guennec, J.L.; Froment, P.; Albaric, O.; Labrut, S.; et al. Lack of Toxic Interaction Between Fusariotoxins in Broiler Chickens Fed throughout Their Life at the Highest Level Tolerated in the European Union. Toxins 2019, 11, 455.

Riley, R.T.; Merrill, A.H. Ceramide Synthase Inhibition by Fumonisins: A Perfect Storm of Perturbed Sphingolipid Metabolism, Signaling, and Disease. J. Lipid Res. 2019, 60, 1183–1189.

Scott, P.M. Recent Research on Fumonisins: A Review. Food Addit. Contam. Part A 2012, 29, 242–248.

Tardieu, D.; Tran, S.T.; Auvergne, A.; Babilé, R.; Benard, G.; Bailly, J.D.; Guerre, P. Effects of Fumonisins on Liver and Kidney Sphinganine and the Sphinganine to Sphingosine Ratio during Chronic Exposure in Ducks. Chem. Biol. Interact. 2006, 160, 51–60. Toxins 2019, 11, 590. doi: 10.3390/toxins11100590.

Tardieu, D.; Travel, A.; Metayer, J.-P.; le Bourhis, C.; Guerre, P. Fumonisin B1, B2 and B3 in Muscle and Liver of Broiler Chickens and Turkey Poults Fed with Diets Containing Fusariotoxins at the EU Maximum Tolerable Level.

Tardieu, D.; Travel, A.; le Bourhis, C.; Metayer, J.-P.; Mika, A.; Cleva, D.; Boissieu, C.; Guerre, P. Fumonisins and Zearalenone Fed at Low Levels Can Persist Several Days in the Liver of Turkeys and Broiler Chickens after Exposure to the Contaminated Diet Was Stopped. Food Chem. Toxicol. 2021, 148, 111968.

Tran, S.T.; Bailly, J.D.; Tardieu, D.; Durand, S.; Benard, G.; P Guerre. Sphinganine to sphingosine ratio and predictive biochemical markers of fumonisin B1 exposure in ducks. Chem. Biol. Interact. 2003, 146, 61-72.

Voss, K.A.; Smith, G.W.; Haschek,W.M. Fumonisins: Toxicokinetics, Mechanism of Action and Toxicity. Anim. Feed Sci. Technol. 2007, 137, 299–325.

World Health Organization. Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. WHO Food Additives Series: 63. FAO JECFA MONOGRAPHS 8; WHO Press: Geneva, Switzerland, 2011.

Tableau 1. Traitements expérimentaux.

Traitement	Jours de traitement	Fumonisines (FB1+FB2)	AC
Témoin	-	-	-
AC, 4 jours (AC 4j)	J16 – J21	-	0,450 kg/T
AC, 9 jours (AC 9j)	J13 – J21	-	0,450 kg/T
Fumonisines 4 jours (FB 4j)	J16 – J21	20 ppm	-
Fumonisines 9 jours (FB 9j)	J13 – J21	20 ppm	-
AC +fumonisines, 4 jours (FB+AC 4j)	J16 – J21	20 ppm	0,450 kg/T
AC +fumonisines, 9 jours (FB+AC 9j)	J13 – J21	20 ppm	0,450 kg/T

Tableau 2. Bases sphingoïdes hépatiques mesurées chez des poulets nourris pendant 4 et 9 jours (d) avec régime témoin et régimes contenant des fumonisines (FB) et algo-argile (AC) et des fumonisines B + algo-argile (FB+AC) en nmol/ g.

Variable1	Control	AC 4j	AC 9j	FB 4j	FB+AC 4j	FB 9j	FB+AC 9j
Sa	0.66±0.3DE	0.37±0.18E	0.5±0.18DE	0.93±0.23CD	1.15±0.45C	2.48±0.96A	1.88±0.71B
So	7.21±3.08BC	3.74±1.16D	8.11±2.4B	6.63±2.19BC	5.55±1.51CD	11.86±4.1A	8.14±2.04B
Sa/So	0.1 ±0.03BC	0.11±0.06BC	0.07±0.03C	0.15±0.04B	0.21 0.06A	0.24±0.09A	0.23±0.09A

[1] Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD de 10 animaux par groupe. Une ANOVA a été réalisée pour comparer les groupes. Lorsqu'une différence significative a été observée ($P < 0,05$), les moyennes ont été comparées (Duncan). Différentes lettres dans la même rangée identifient des groupes statistiquement différents ($P < 0,05$).

Figure 1 Teneur de la fumonisine B1 dans le foie des poulets de chair avec ou sans l'AC après 4 ou 9 jours d'exposition

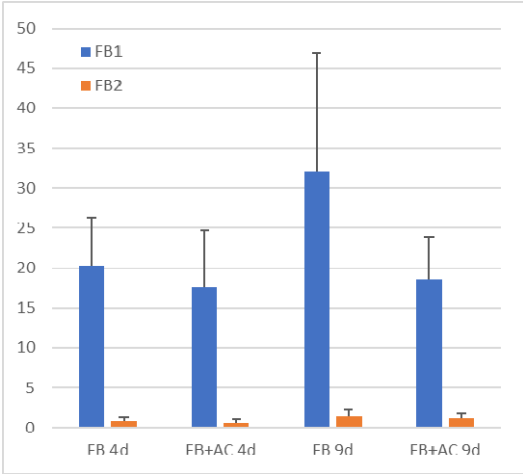
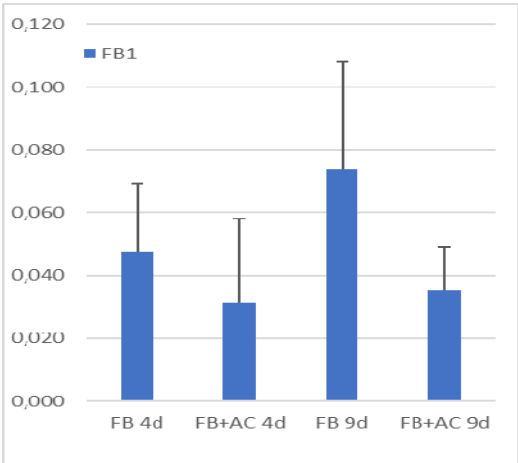


Figure 2 Teneur en fumonisine B1 dans le muscle pectoral des poulets de chair avec ou sans l'AC après 4 ou 9 jours d'exposition



ACTIVATION DES LEUCOCYTES HETEROPHILES ET DES MONOCYTES CHEZ LE POULET DE CHAIR PAR UN EXTRAIT D'ALGUE ET SA FORMULATION COMMERCIALE

Bussy Frédérick[1], Guriec Nathalie[2], Mathiaud Olivier[3], Le Goff Matthieu[1], Delarue Jacque[2], Nyvall Collen Pi[1]

[1]OLMIX - ZA du Haut du Bois - 56580 BREHAN,
[2]Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé – 22 avenue Camille Desmoulins – 29100 BREST,
[2]R&D BREIZH – 56500 MOUSTOIR AC
fbussy@olmix.com

RÉSUMÉ

Chez les volailles, deux types cellulaires majeurs sont impliqués dans l'immunité innée : les leucocytes hétérophiles et les monocytes. Les monocytes peuvent se différencier en cellules dendritiques et en macrophages, jouant un rôle important dans le développement des réponses innée et adaptative via leurs fonctions respectives de présentation des antigènes et de phagocytose. L'objectif du projet était d'étudier l'effet de deux produits (un extrait issu d'*Ulva armoricana* récemment renommée *Ulva laetevirens* (appelé produit algal), et l'association du même extrait avec d'autres composés comme des vitamines (appelé produit formulé)), sur des leucocytes hétérophiles et les monocytes. Les produits ont été administrés via l'eau de boisson pendant vingt-quatre heures. Les cellules immunitaires ont été isolées à partir de prélèvements sang réalisés quotidiennement entre J0 et J3.

L'activation des hétérophiles a été mise en évidence par notamment la libération de glucuronidase et, celle des monocytes par la libération d'oxyde nitrique. L'activation des deux types cellulaires a été mise en évidence dès 24 heures après l'application des produits testés. La transcription des gènes de différents médiateurs a été démontrée pour l'interleukine 1 β (IL1β), l'interféron α (IFNα) et l'interféron γ (IFNγ), de façon dose et temps dépendant pour le produit algal et de façon temps dépendant pour le produit formulé. Les évolutions les plus significatives, pour les deux extraits ont concerné : l'IFNα, l'IFNγ, l'IL1β et l'OAS pour les hétérophiles et l'IFNγ, l'IL1β et l'OAS pour les monocytes. Ces résultats suggèrent que l'association de l'extrait d'algue étudié avec d'autres composés pourrait renforcer le système immunitaire et aider à la gestion des challenges immunitaires.

ABSTRACT

Activation of heterophils and monocytes from broilers by a seaweed extract and its commercial formulation

In the poultry species, two different cells are involved in innate immunity: heterophils and monocytes. The last ones can differentiate into dendritic cells and macrophages and thus playing an important role in the development of innate and adaptative responses, due to their roles in antigen presentation and phagocytosis. The objective of the study was to evaluate the effect of two products (an extract from *Ulva armoricana*, recently renamed *Ulva laetevirens (named algal product) and* its formulated version including other compounds such as vitamins (named formulated product)), on avian monocytes and heterophiles.

Activation was demonstrated, in heterophils, via glucuronidase release and, in monocytes, by nitric oxide release. Activation of both cell types was observed as soon as one day after product application. Gene transcription of different immune mediators was demonstrated for interleukin 1 β (IL1β), interferon α (IFNα) and interferon γ (IFNγ) and was dose and time dependent for the purified extract and time dependent for the commercial version. The most significant evolution was observed for both extracts on IFNα, IFNγ, IL1β and OAS in heterophils and IFNγ, IL1β and OAS in monocytes. These results suggest that the seaweed extract, as well as its association with other compounds, can reinforce the immune system and help to manage immune challenges.

INTRODUCTION

Le système immunitaire inné assure une première ligne de défense et permet de recruter des cellules immunitaires, diriger la réponse immunitaire adaptative. Comme pour les mammifères, les réponses Th1/ Th2 s'appliquent chez la volaille (Lowenthal et al, 2013). La réponse Th1 implique l'immunité cellulaire avec notamment les lymphocytes cytotoxiques, en réponse aux pathogènes intracellulaires et aux virus et nécessitant l'interféron gamma (IFNγ) (Lowenthal et al, 2013). Les cytokines libérées pour la réponse Th2 sont plus spécifiquement les interleukines 10 et 13 (IL10, IL13), en réponse aux pathogènes extracellulaires, incluant les bactéries et les virus (Lowenthal et al, 2013).

Les macro-algues rouges, vertes et brunes sont des sources importantes de composés bioactifs, parmi eux, les polysaccharides sulfatés comme les ulvans issus des macro-algues vertes possédant des activités biologiques (Xu et al, 2017).

Il a été récemment démontré qu'un extrait d'*U. laetevirens* pouvait activer les hétérophiles et les monocytes aviaires via les récepteurs TLR2 et TLR4 (Guriec et al, 2018). L'objectif de cette étude est de déterminer si cette activation est conservée quand l'extrait d'*U. laetevirens* est associé à des vitamines A et D3.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Expérimentation *in vivo*

Cent vingt-cinq poulets de vingt-huit jours d'âge de génétique ROSS ont été répartis dans cinq groupes. Un groupe contrôle, trois groupes ont reçu un extrait d'Ulva sp par eau de boisson à différents dosages (dix, vingt-cinq et cinquante mg/l d'eau de boisson), un groupe a reçu un produit commercial (Searup®) à la dose d'un ml/l d'eau de boisson au cours de trois répétitions (vingt-quatre à vingt-six poulets/groupe/répétition). L'administration des deux produits a été incorporé dans l'eau de boisson pendant vingt-quatre heures consécutives.

Le projet a reçu l'avis favorable du comité d'éthique de Brest.

1.2. Isolement des cellules

Un ml de sang a été prélevé à J0 (avant distribution des produits), J1(à la fin des administrations des produits), J2 (24 heures après la fin de l'administration des produits) et J3 (48 heures après la fin de l'administration des produits) pour chaque animal. L'isolation des cellules a été réalisée après avoir poolés les prélèvements sanguins de 3 animaux d'un même groupe.

Les leucocytes hétérophiles et les monocytes ont été isolé à partir des prélèvements sanguins puis purifiés afin de tester leurs activations puis congelés jusqu'aux dosage de l'expression des cytokines par RT-qPCR selon la méthodologie décrite préalablement (Farnell et al 2013 ; Guriec et al 2018).

La dégranulation des hétérophiles a été estimé sur les cellules fraiches via l'activité de la β-D-glucuronidase par mesure de la fluorescence générée par le clivage de la 4-methylumbelliferyl- β-D-glucuronide en 4-methylumbelliferone.

La concentration en oxide nitrique (NO) a été déterminée en triplicats avec le réactif de Griess sur les cellules fraiches.

1.3. Analyses statistiques

Les comparaisons ont été effectuées par un test d'ANOVA et une correction de Bonferroni avec le logiciel PRISM. Les valeurs indiquées correspondent à la moyenne ± écart type de la moyenne. P values < 0.05 ont été considérée comme significatives.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'extrait d'*U. laetevirens* et le produit formulé ont induit une sécrétion d'oxide nitrique qui augmente avec le temps (Figure 1). Chez les volailles, la synthèse d'oxide nitrique reflète, principalement, l'activation des monocytes. La cinétique de l'oxide nitrique observée, correspond à celle des expressions des gènes iNOS et IFNγ, avec un pic à J1 puis une diminution à J2 et un retour au niveau basal à J3 (Figure 2). Lors d'études précédentes, il a été démontré que l'augmentation de la transcription de ces gènes était associée à une augmentation de la concentration d' d'IFNγ dans le plasma (Guriec et al, 2018 et 2019). L'IFNγ aviaire a pour fonctions principales de réguler la production d'oxide nitrique (Goossens et al, 2013), et d'agir notamment sur les virus de Gumboro et Newcastle (Mallick et al, 2011 et Lambrecht et al, 1999).

Contrairement aux mammifères, les hétérophiles aviaires ne peuvent pas synthétiser d'oxide nitrique à cause de l'absence de myélopéroxydase (Genovese et al, 2013). Cependant, leur activation peut être mis en évidence par la libération de β-D glucuronidase (St. Paul et al, 2011). Après 24 heures d'administration du produit formulé, une augmentation de la β-D glucuronidase est observée avec une activité maximale à J1 (Figure 3). La β-D-glucuronidase contribue à la protection contre les virus et les bactéries (Genovese et al, 2013, Van Dijk et al, 2008 et 2009). Comme pour la β-D-glucuronidase, l'OAS joue également un rôle dans la protection contre les virus via le clivage des transcrits d'ARN viraux et des ARN des cellules hôtes (Goossens et al, 2013). Le gène de l'OAS est induit par l'extrait d'Ulva et le produit formulé, selon la même cinétique dans les hétérophiles et les monocytes, avec une transcription

maximale à J2 (Figures 2 et 4). Les transcriptions sont maximales entre J1 et J2 pour la majorité des gènes étudiés avec une diminution à J3 excepté pour TLR2 et TLR4 dans les monocytes pour lesquels une légère augmentation est observée à J3. Ces récepteurs semblent également être plus exprimés dans les hétérophiles que les monocytes (Figures 2 et 4).
L'activation des hétérophiles entraine une transcription d'IFNα, comme dans le cas d'une réponse virale, par exemple lors d'une infection par le virus de la grippe aviaire ou le virus de la maladie de Newcastle (Goossens et al 2013).

CONCLUSION

En conclusion, une distribution orale via l'eau de boisson, pendant vingt-quatre heure du produit formulé, à la dose de 1ml/l, active des hétérophiles et les monocytes permettant de stimuler les réponses immunitaires. De plus, les gènes des cytokines exprimées suggèrent que l'extrait d'*U. laetevirens* ainsi que le produit pourraient renforcer le système immunitaire acquis.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Farnell MB, Crippen TL, He H, Swaggerty CL, Kogut MH (2003) Dev Comp Immunol 27(5): 423-429.
Genovese KJ, (2013) Dev Comp Immunol 41(3): 334-340.
Goossens K, (2013) Dev Comp Immunol 41(3): 370-376.
Guriec N, (2018). Front Immunol 9: 2725-2744.
Guriec N, (2021). J Vet Sci Res 6(1).
Lambrecht B, (1999) Vet Immunol Immunopathol 70(3-4): 257-267.
Lowenthal JW., 2013. Dev. Comp. Immunol., (3), 307-309.
Mallick AI, (2011) J Interf Cyt Res 31(6): 493-500.
St. Paul M, (2011) Vet Immunol Immunopath 144(3-4): 228-237.
Van Dijk A, (2008) Vet Immunol Immunopathol 124(1-2): 1-18.
Van Dijk A, (2009) Mol Immunol 46(7): 1517-1526.
Xu SY, Huang X, Cheong KL (2017) Mar Drugs 15(12): 388-404.

Figure 1. Evolution de la concentration d'oxide nitrique dans les monocytes issus de poulet recevant, via l'eau de boisson, pendant 24 heures, un extrait d'Ulva sp ou un complexe extrait d'Ulva- vitamines (nommé produit formulé dans le graphique).

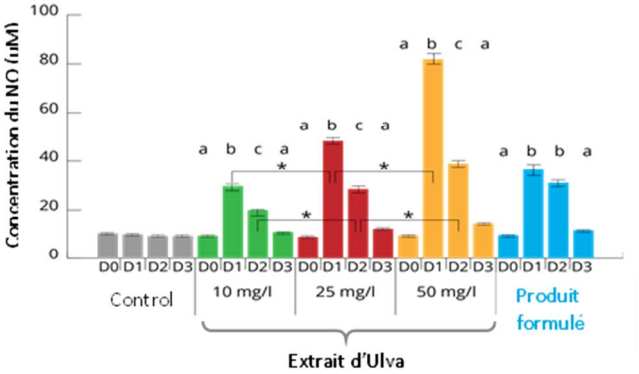


Figure 2. Evolution de l'expression des cytokines en réponse à l'activation des monocytes par un complexe extrait d'Ulva- vitamines, administré via l'eau de boisson, pendant 24 heures.

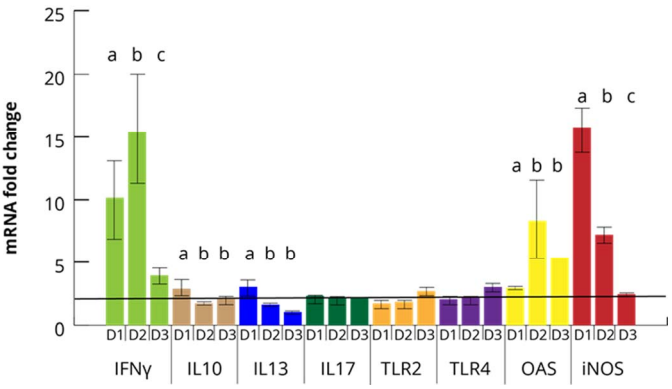


Figure 3. Evolution de la concentration de glucuronidase dans les leucocytes hétérophiles issus de poulet recevant, via l'eau de boisson, pendant 24 heures, un extrait d'Ulva sp ou un complexe extrait d'Ulva- vitamines (nommé produit formulé dans le graphique).

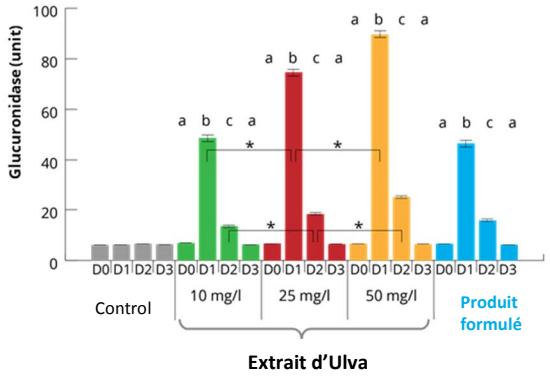
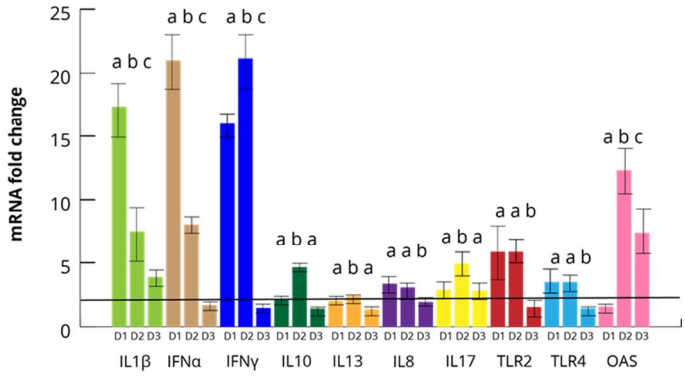


Figure 4. Evolution de l'expression des cytokines en réponse à l'activation des hétérophiles par un complexe extrait d'Ulva- vitamines.



SESSION NUTRITION

SESSION NUTRITION

Posters

DETERMINATION DES BESOINS OPTIMAUX EN ACIDES AMINES SOUFRES (MET+CYS) CHEZ LE POULET DE CHAIR SUPPLEMENTE EN L-MET.

Bart Matton[1], Joske Millecam[2], Daulat Rehman Khan[1], Annelike Dedeurwaerder[2], Behnam Saremi[1]

[1]CJ EUROPE GMBH, 2-14 Unterschweinstiege, 60549 FRANKFURT AM MAIN, Germany,
[2]POULPHARM BVBA, 112 Prins-Albertlaan, 8870 IZEGEM, Belgium.
b.matton@cj.net

RÉSUMÉ

La méthionine, premier acide aminé limitant chez les poulets de chair a été commercialement utilisée depuis longtemps sous la forme DL-Met constituée de 50% L-Met et 50% D-Met. Ce dernier doit être converti en L-Met par voie enzymatique avant d'être utilisable pour l'animal. Les recommandations des acides aminés soufrés (Met+Cys) sont principalement basées sur des études de DL-Met et sont variables (par ex. sexe, conditions d'élevage…). L'objectif de cette étude était de déterminer les besoins nutritionnels du poulet de chair à chaque phase (démarrage J0-10, croissance J11-23, finition J24-35) pour les acides aminés soufrés à base de supplémentation en L-Met. Au total 1890 animaux mâles Ross 308 sont utilisés. A chaque fin de phase les paramètres de performance (poids, GMQ, CMJ, IC) étaient mesurés ainsi que les paramètres de composition corporelle (poids de car casse, filet et cuisse) au jour 35. Le niveau de supplémentation en L-Met impacte significativement ($p<0.05$) les paramètres GMQ et IC à chaque phase et la CMJ lors de la phase démarrage et croissance. Le poids final à chaque phase est en accord avec les préconisations d'élevage Ross 308. Les niveaux optimaux de DIS Met+Cys étaient estimés à base des modèles de régression linéaire et correspondent avec 0.69, 0.66, 0.62% ; respectivement pour la phase démarrage, la croissance et la finition. Les résultats de l'essai montrent que les besoins optimaux du poulet de chair en DIS Met+Cys basés sur le L-Met sont inférieurs par rapport aux recommandations et à la littérature actuelles qui eux sont basées sur le DL-Met.

ABSTRACT
Determining optimal sulfur amino acid (Met+Cys) requirements in broilers supplemented with L-Met

Methionine, the first limiting amino acid in broilers has been commercially used for a long time as DL-Met consisting of 50% L-Met and 50% D-Met. The latter needs to be transformed into L-Met by an enzymatic pathway before it can be used by the animal. The current recommendations of the sulfur containing amino acids (Met+Cys) are largely determined based on DL-Met studies and are largely variable (eg. sex, farm conditions, …). The objective of this trial was to investigate the optimal sulfur amino acid requirements of broilers in each phase of life (starter D0-10, grower D11-23, finisher D24-35) based on L-Met supplementation. In total 1,890 animals, male Ross 308, were used. At the end of each phase, the performance parameters (weight, ADG, ADFI and FCR) were measured and on day 35 the slaughter yield was measured (carcass, breast and leg weight). The level of L-Met supplementation significantly ($p<0.05$) impacted the ADG and FCR in all phases and the ADFI in starter and grower phase. The final weights of each phase were in line with the Ross 308 performance guidelines. The optimal levels of SID Met+Cys were estimated based on linear regression models and correspond with 0.69, 0.66, 0.62% for starter, grower and finisher phase respectively. The results of this trial indicate that broilers have lower optimal SID Met+Cys requirements based on L-Met supplementation than the actual requirements and literature based on DL-Met.

INTRODUCTION

Les acides aminés sous forme libre offrent aux nutritionnistes la possibilité de réduire la protéine brute de la ration en conservant les performances et en réduisant les excrétions d'azote dans l'environnement. La méthionine (Met) étant le premier acide aminé limitant chez les poulets de chair, répondre aux besoins nutritionnels des acides aminés soufrés (méthionine et cystéine (Met+Cys)) est crucial. Une carence de ces acides aminés résultera en une réduction des performances. De plus, la majorité des études déterminant les besoins en acides aminés soufrés sont basées sur l'utilisation de DL-Met (Jensen et al., 1989 ; Dozier and Mercier, 2013 ; Faridi et al., 2016). La DL-Met est constituée de 50% L-Met (isomère L) et 50% D-Met (isomère D). D'un point de vue physiologique, les cellules animales peuvent utiliser uniquement l'isomère L. L'isomère D doit être converti par l'animal en L avant d'être utilisable pour la synthèse protéique. Si cette conversion est une étape limitante pour l'animal, la supplémentation de l'isomère L doit théoriquement résulter en des meilleurs synthèse et dépôt protéique. Néanmoins on observe des conflits dans la littérature entre les deux sources de méthionine par rapport à l'efficacité d'absorption et la performance (Zhang et al., 2017 ; Park et al., 2018 ; Esteve-Garcia and Khan, 2018). Cette étude a pour but de déterminer les besoins optimaux en acides aminés soufrés (Met+Cys) chez poulet de chair supplémenté en L-Met.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et condition d'élevage

L'étude a été menée dans l'unité expérimentale de Poulpharm (Belgique). Un total de 1890 animaux mâles Ross 308 a été utilisé. Des poussins d'un jour ont été placés dans des parquets au sol d'1 m² (groupe essai) ou dans un parquet au sol de 42 m² (groupe réserve). Le groupe réserve servira à déterminer le besoin en M+C pour les deux dernières phases de l'essai soit la croissance et la finition dans les parquets au sol d'1 m² (Millecam et al., 2021). Tous les aliments utilisés lors de l'essai sont fabriqués par Research Diet Services BV (NL, Duurtstede). Le soin des animaux et les conditions d'élevage étaient en accord avec le 'Guide for the Care and Use of Agricultural Animals and Research and Teaching' (FASS, 2010).

1.2. Schéma expérimental

A chaque phase, 7 régimes ont été réalisés: une ration de base (maïs, tourteau de soja, blé) limitant en Met+Cys (traitement 1) (Tableau 1) et 6 rations (traitements 2-7) avec différents niveaux de supplémentation en L-Met issu d'un processus de fermentation (BESTAMINO™ L-Met 100, pureté 99%, CJ Europe GmbH, Frankfurt am Main) (Tableau 2). Pour chaque traitement, 6 répétitions ont été réalisées avec 15 animaux par répétition soit 1890 animaux au total dans les 3 phases.

Tableau 2: Met+Cys mesuré dans les aliments d'essai (g/100g)

Traitement	Démarrage (J0-10)	Croissance (J11-23)	Finition (J24-35)
1	0.65	0.64	0.55
2	0.74	0.67	0.57
3	0.78	0.70	0.60
4	0.80	0.73	0.66
5	0.90	0.82	0.74
6	0.97	0.92	0.85
7	1.05	0.97	0.95

1 Ration de base (RB) ; 2 RB + 0.05% L-Met ; 3 RB + 0.10% L-Met ; 4 RB + 0.15% L-Met ; 5 RB + 0.25% L-Met ; 6 RB + 0.35% L-Met ; 7 RB + 0.45% L-Met .

Au début de l'essai, 630 poussins ont été répartis sur 42 enclos au sol de 1m² (groupe essai) et 1260 poussins sur 2 grands enclos au sol de 42m² (groupe réserve). Les 10 premiers jours les animaux logés dans les parquets au sol d'1 m² ont reçu l'aliment démarrage expérimental, les animaux de réserve ont reçu l'aliment démarrage dénommé 'aliment démarrage commercial', qui est en accord avec les directives d'élevage Ross 308 (Aviagen, 2019a,b) (Tableau 3). Au jour 10, les animaux ayant reçu l'aliment démarrage expérimental ont été pesées. Parmi les animaux du groupe réserve, 630 animaux ont été sélectionnés, pesés et placés dans les parquets au sol de 1 m² et nourris avec l'aliment de croissance expérimental. Le groupe réserve est nourri avec l'aliment de croissance dénommé 'aliment commercial croissance', qui est également en accord avec les directives d'élevage Ross 308 (Aviagen, 2019a,b) (Tableau 3). Au jour 23, la même opération est effectuée pour les animaux en essai et les animaux du groupe réserve en les nourrissant avec l'aliment de finition expérimental. Au jour 35, les animaux ayant reçu l'aliment finition expérimental ont été pesés par parquet et 4 animaux de chaque parquet ont été sélectionnés selon leur représentativité à leur groupe (poids moyen), soit 168 animaux au total, afin de déterminer les paramètres de composition corporelle.

1.3. Mesures

La santé animale et le taux de mortalité ont été évalués chaque jour. Les paramètres de performance ont été mesurés à la fin de chaque phase : poids vif, Gain Moyen Quotidien (**GMQ**), Consommation Moyenne Journalière (**CMJ**), Indice de Consommation (**IC**). A la fin de l'essai (J35) les

paramètres de composition corporelle : poids carcasse, filet et cuisse ont été mesurés.

1.3. Analyses statistiques

Les données ont été traitées par le logiciel R (R Core team, 2020). Le taux de mortalité a été analysé en utilisant un modèle 'Cox proportional hazards' (Therneau and Grambsh, 2000). Les différences significatives ($p<0.05$) ont été analysées par des modèles de régression linéaire pour les paramètres de performance et de composition corporelle. Trois modèles statistiques sont utilisés pour l'évaluation des paramètres (modèle linéaire, linéaire brisé et modèle exponentiel asymptotique). La qualité d'ajustement a été évaluée et est basée sur le R^2 des observations de paramètres individuels et pour l'interprétation graphique, le modèle linéaire brisé a été retenu.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Résultats des performances et des paramètres de composition corporelle

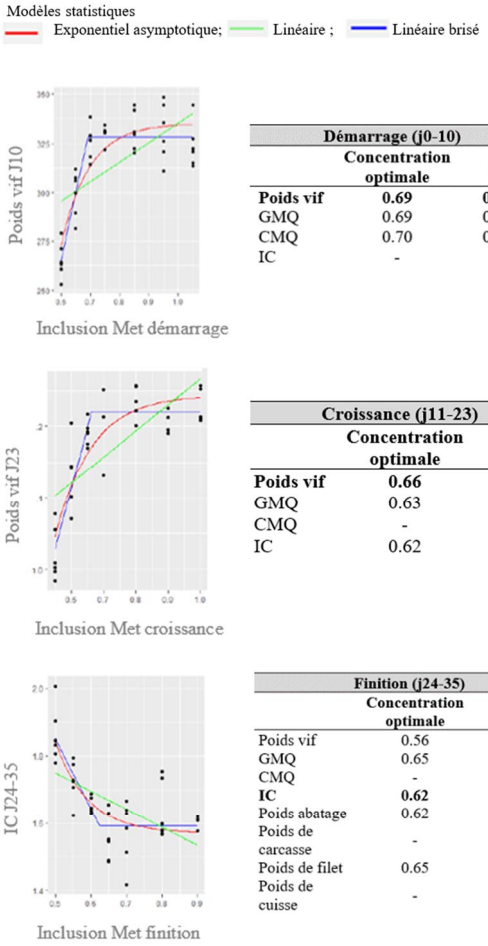
Les résultats de performance dans les 3 phases sont présentés dans le tableau 4. Le niveau de supplémentation en L-Met a un impact significatif ($p<0.05$) sur les paramètres GMQ et IC à chaque phase et la CMJ lors de la phase démarrage et croissance. Le poids final à chaque phase est en accord avec les directives d'élevage Ross 308 (Aviagen, 2019a,b). Esteve-Garcia et Khan (2018) ont également observé une augmentation du poids vif, QMC et CMQ et une amélioration de l'IC quand la concentration de DL-Met et L-Met augmente. Les résultats de cette étude montrent également que les animaux en phase démarrage et croissance étaient sensibles au taux de Met + Cys digestible dans l'aliment.

Même si un effet clair était observé sur la performance en phase démarrage et croissance, les effets pour les paramètres de performance et de la composition corporelle (données non présentées) des animaux en phase finition sont moins visibles.

2.2. Besoins optimaux de Met + Cys digestible

En considérant le modèle linéaire brisé, les besoin optimaux de Met + Cys de chaque phase sont présentés par la figure 1.

Figure 1: Besoin optimale de Met + Cys digestible en phase démarrage, croissance et finition.



Démarrage (j0-10)	Concentration optimale	R^2
Poids vif	**0.69**	**0.84**
GMQ	0.69	0.83
CMQ	0.70	0.46
IC	-	-

Croissance (j11-23)	Concentration optimale	R^2
Poids vif	**0.66**	**0.84**
GMQ	0.63	0.82
CMQ	-	-
IC	0.62	0.83

Finition (j24-35)	Concentration optimale	R^2
Poids vif	0.56	0.17
GMQ	0.65	0.36
CMQ	-	-
IC	**0.62**	**0.66**
Poids abatage	0.62	0.06
Poids de carcasse	-	-
Poids de filet	0.65	0.12
Poids de cuisse	-	-

À l'issue de cet essai, les niveaux optimaux de DIS Met+Cys étaient estimés à respectivement 0.69, 0.66, 0.62% pour le démarrage, la croissance et la finition, à base du modèle linéaire brisé, lorsque l'aliment est supplémenté avec L-Met. Ces valeurs sont plus bas par rapport aux recommandations et à la littérature actuelles qui eux sont basées sur DL-Met (Jensen et al., 1989; FASS, 2010; Aviagen 2019a,b).

CONCLUSION

Les résultats de l'essai montrent que les besoins optimaux du poulet de chair en DIS Met + Cys basés sur le L-Met sont inférieurs par rapport aux recommandations et à la littérature actuelles qui eux sont basées sur le DL-Met.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aviagen. 2019a. Ross 308/Ross 308 FF broiler: performance objectives.
Aviagen. 2019b. Ross Nutrition Specifications.
Dozier, W.A., and Y. Mercier. 2013. In: The journal of applied poultry research 22 (4):862-871.
Esteve-Garcia, E., and D.R. Khan. 2018. In: Open journal of animal sciences 8:151-162.
Faridi, A., A. Gitoee, N.K. Sakomura, D.C.Z. Donato, C. Angelica Gonsalves, M. Feire Sarcinelli, M.Bernardino de Lima, and J. France. 2016. In: Journal of Applied Animal Research 44:1:315-322.
FASS. 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching 3ed.
Jensen, L. S., C. L. Wyatt, and B. I. Fancher. 1989. In: Poult Sci 68 (1):163-8.
Mastrototaro, L., G. Sponder, B. Saremi, and J. R. Aschenbach. 2016. IUBMB Life 68 (12):924-934.
Millecam, J., D.R. Khan, A. Dedeurwaerder and B. Saremi. 2021 In: Poult Sci 100 (2):910-917
R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria;
Park, I., T. Pasquetti, R. D. Malheiros, P. R. Ferket, and S. W. Kim. 2018. In: Poult Sci 97 (1):102-109.
Therneau, T.M, and P.M. Grambsch. 2000. Modeling Survival Data: extending the Cox Model. Springer New York
Zhang, S., B. Saremi, E. R. Gilbert, and E. A. Wong. 2017. In: Poult Sci 96 (2):425-439.
Zhang, S., E. A. Wong, and E. R. Gilbert. 2015. In : Front Biosci (Elite Ed) 7:478-90.

Tableau 1 Composition des rations de base (RB) de chaque phase.

	Démarrage (j0-10), %	Croissance (j11-23), %	Finition (j24-35), %
Ingrédients			
Mais	46.88	59.20	49.27
Tourteau de soja 48%	29.19	22.85	20.58
Blé	16.34	10.00	15.00
Amidon de blé			5.00
Huile de soja	2.35	2.95	4.98
Carbonate de calcium	1.68	1.39	1.78
Sel	0.32	0.34	0.34
Phosphate monocalcique	1.52	1.51	1.36
L-Lysine² (pureté 99%)	0.42	0.45	0.42
L-Thréonine² (pureté 98.5%)	0.24	0.22	0.21
Prémix[1]	0.50	0.50	0.50
L-Valine² (pureté 98%)	0.20	0.19	0.18
L-Arginine² (pureté 98.5%)	0.20	0.25	0.23
L-Isoleucine² (pureté 90%)	0.15	0.16	0.15
Nutriments (%)			
Protéine brute	23.2	20.00	18.1
Matière grasse	6.30	6.10	7.50
Humidité	10.87	10.37	10.27
Contenu en acides aminés (g/100g)³			
Lysine	1.48	1.29	1.17
Méthionine	0.32	0.33	0.27
Cystéine	0.33	0.31	0.28
Thréonine	1.00	0.89	0.81
Valine	1.28	1.01	0.96
Arginine	1.50	1.32	1.20
Tryptophane	0.28	0.23	0.22

[1]Le prémix contient les nutriments suivants : vitamine A, vitamine D_3, vitamine E, vitamine K_3, vitamine B_2, vitamine B_6, vitamine B_{12}, niacine, D-acide pantothénique, chlorure de choline, acide folique, biotine, fer, cuivre, manganèse, zinc, iode et sélénium
²Produits de CJ BIO (CJ Cheiljedang, Seoul, Corée du Sud)
³ Acides aminés totaux analysés

Tableau 3: Analyse des aliments commercial démarrage et croissance

	Aliment commercial démarrage	**Aliment commercial croissance**
Nutriments (%)		
Protéine brute	22.20	19.80
Matière grasse	4.80	5.70
Humidité	10.34	10.53
Cendres brutes	5.76	5.35
Fibres brutes	2.50	2.10
Acides Aminés (Total) (g/100g)		
Lysine	1.43	1.26
Méthionine	0.67	0.56
Cystéine	0.32	0.28
Thréonine	0.99	0.86
Valine	1.21	1.07
Isoleucine	1.07	0.95
Leucine	1.74	1.57
Histidine	0.55	0.48
Arginine	1.47	1.30
Tryptophane	0.23	0.22

Tableau 4: Résultats des indicateurs de performance

Traitement	Poids vif à la fin de chaque phase (g)	GMQ (g/jour)	CMJ (g/jour)	IC
1 (démarrage)	265.23 (3.61)^{c}	21.95 (0.32)^{c}	24.71 (1.28)^{c}	1.12 (0.05)^{a}
2 (démarrage)	299.29(4.83)^{b}	25.24 (0.54)^{b}	26.69 (0.82)^{bc}	1.08 (0.02)^{ab}
3 (démarrage)	325.61 (3.46)^{a}	27.84 (0.39)^{a}	29.49 (0.52)^{a}	1.05 (0.01)^{abc}
4 (démarrage)	329.83 (4.40)^{a}	27.93 (0.39)^{a}	29.94 (1.19)^{a}	1.04 (0.03)^{bc}
5 (démarrage)	331.55 (4.08)^{a}	28.28 (0.45)^{a}	29.46 (0.47)^{a}	1.04 (0.01)^{bc}
6 (démarrage)	331.06 (5.91)^{a}	28.42 (0.64)^{a}	29.51 (0.71)^{a}	1.04 (0.01)^{bc}
7 (démarrage)	323.93 (4.60)^{a}	27.83 (0.45)^{a}	28.53 (1.05)^{ab}	1.00 (0.03)^{c}
1 (croissance)	1,021.11 (14.85)^{d}	53.35 (1.09)^{c}	97.57 (1.81)^{a}	1.83 (0.05)^{a}
2 (croissance)	1,133.51 (18.59)^{c}	61.93 (1.64)^{b}	94.79 (1.26)^{ab}	1.54 (0.06)^{b}
3 (croissance)	1,190.89 (6.78)^{b}	66.42 (0.58)^{a}	96.07 (0.78)^{a}	1.44 (0.02)^{bc}
4 (croissance)	1,203.77 (17.72)^{ab}	67.05 (1.71)^{a}	94.70 (1.98)^{ab}	1.41 (0.01)^{c}
5 (croissance)	1,234.24 (8.67)^{a}	69.01 (1.02)^{a}	94.61 (0.82)^{ab}	1.37 (0.02)^{c}
6 (croissance)	1,210.12 (13.55)^{ab}	67.42 (0.73)^{a}	95.22 (1.30)^{ab}	1.41 (0.02)^{c}
7 (croissance)	1,229.50 (10.25)^{ab}	66.32 (1.21)^{a}	92.11 (1.58)^{b}	1.36 (0.01)^{c}
1 (finition)	2,227.92 (13.66)^{b}	88.12 (1.36)^{c}	163.91 (2.09)	1.86 (0.03)^{a}
2 (finition)	2,355.22 (101.11)^{ab}	94.0 1(4.01)^{bc}	169.61 (7.78)	1.73 (0.02)^{b}
3 (finition)	2,363.33 (51.03)^{ab}	99.17 (4.32)^{ab}	165.89 (5.19)	1.66 (0.02)^{bc}
4 (finition)	2,389.19 (40.52)^{a}	106.83 (1.72)^{a}	166.52 (3.22)	1.56 (0.03)^{d}
5 (finition)	2,346.72 (48.93)^{ab}	102.21 (2.90)^{ab}	160.85 (5.26)	1.58 (0.04)^{cd}
6 (finition)	2,372.22 (69.94)^{a}	100.46 (5.53)^{ab}	163.36 (6.03)	1.64 (0.03)^{cd}
7 (finition)	2,402.33 (47.74)^{a}	108.91 (3.83)^{a}	168.39 (3.56)	1.60 (0.05)^{cd}

$^{a-d}$ groupe de traitement qui sont significativement différents ($p<0.05$) selon les paramètres et la phase de vie ont une lettre différente.
GMQ: Gain Moyen Quotidien, CMJ: Consommation Moyenne Journalière, IC: Indice de Consommation.

VALEUR NUTRITIONNELLE DE DIFFÉRENTS TOURTEAUX DE SOJA EXPELLER FRANÇAIS CHEZ LE POULET DE CHAIR

Danel Justine[1], Tormo Elodie[3], Traineau Maxime[1], Quinsac Alain[2], Peyronnet Corinne[3], Vilariño Maria[1]

[1]ARVALIS - Institut du végétal - 2, Pouline, 41100 VILLERABLE
[2]Terres Inovia - 11 rue Monge, Parc industriel, 33600 PESSAC
[3]Terres Univia - 11 rue de Monceau, 75008 PARIS

j.danel@arvalis.fr

RÉSUMÉ

Le tourteau de soja (TS) constitue la principale source de protéines concentrées en alimentation du bétail, en particulier pour la filière volaille. Cependant, une grande majorité du TS est importée, à un prix élevé pour ceux tracés non OGM, alors qu'ils pourraient être en partie substitués par des tourteaux issus de graines de soja produites en France. Des unités de trituration de faible à moyenne capacité produisent des TS partiellement déshuilés après décorticage et cuisson-pression des graines, appelés « expeller » (TSe) tandis que de plus grosses unités produisent des TS déshuilés (TSd) par extraction à l'hexane. Afin de proposer des valeurs de référence sur les qualités nutritionnelles de ces tourteaux, une étude a été réalisée sur cinq lots de TS produits en France par différentes unités de trituration : quatre TSe et un TSd en tant que témoin. Des mesures de digestibilité ont été réalisées chez le poulet de chair au niveau fécal (énergie et protéine) et au niveau iléal (protéine et acides aminés, AA). Pour les TSe, les teneurs (en % de matière sèche, MS) varient pour la protéine de 46,3 à 50,7% MS, pour la teneur en matière grasse (MG après hydrolyse) de 9,3 à 14,2% MS. Les valeurs énergétiques (Energie Métabolisable Apparente à bilan azoté nul, ou EMAn) mesurées vont de 2 627 à 2 924 kcal/kg MS. La digestibilité des protéines des TSe varie au niveau fécal de 84,8 à 85,9 % et au niveau iléal de 81,9 à 85,1 %. Les teneurs en AA digestibles mesurées au niveau iléal s'échelonnent pour la lysine de 2,37 à 2,51 % MS. Le TSd testé comme référence est valorisé de façon similaire aux TS48 des tables toutes origines confondues sur le plan des AA. Les résultats obtenus dans cet essai montrent que les TSe métropolitains évalués sont des sources de protéines intéressantes, avec des niveaux de digestibilité satisfaisants (protéines et AA) et des EMAn élevées pour certaines origines.

ABSTRACT

Nutritional value of different french soybean meals for chickens

The soybean meal (SBM) is the main source of concentrated protein in animal feed, in particular for the poultry industry. However, a large majority of SBM is imported, at a high price for those traced non-GMOs, when they could be partially substituted by oilcake from soybeans produced in France. Small to medium capacity crushing units produce partially deoiled SBM after dehulling and pressure cooking of the seeds, called "expeller" (SBMe) while larger units produce deoiled SBM (SBMd) by hexane extraction. A study was carried out in order to provide reference values and assess the nutritional qualities of the different batches available to feed manufacturers on the market, five batches of SBM produced in France by different crushing units were tested: four SBMe and one SBMd in as a witness. Digestibility measurements were carried out in broilers at the faecal level (energy, protein) and at the ileal level (protein, amino acids (AA)). For SBMe, the contents (in % of dry matter (DM)) vary for the protein from 46.3 to 50.7% DM, for the fat content (after hydrolysis) from 9.3 to 14.2% DM. The energy values (Apparent Metabolisable Energy at zero nitrogen balance, or AMEn) measured range from 2 627 to 2 924 kcal/kg DM. The digestibility of SBMe proteins varies at the faecal level from 84.8 to 85.9% and at the ileal level from 81.9 to 85.1%. The digestible AA contents measured at the ileal level range for lysine from 2.37 to 2.51% DM. The SBMd tested as a reference is valued in a similar way to the SBM48 of the tables of all origins in terms of AAs. The results obtained in this test show that the metropolitan SBMe evaluated are interesting protein sources, with satisfactory levels of digestibility (proteins and AA) and high AMEn for some of them.

INTRODUCTION

En alimentation animale, le tourteau de soja (TS) constitue la première source de protéines concentrées, en particulier pour la filière volaille. En France, plus de 3,5 Mt de TS sont consommés par an, dont 450 000 t non OGM pour des filières sous cahier des charges. Cependant, une grande majorité est importée, à un prix élevé pour ceux tracés non OGM, alors qu'ils pourraient être substitués par des tourteaux issus de graines de soja produites sur le territoire national. En France, la filière soja se redéveloppe progressivement depuis 2014. Des unités de trituration de faible à moyenne capacité produisent des TS partiellement déshuilés après décorticage et cuisson-pression des graines, appelés « expeller » (TSe) tandis que de plus grosses unités produisent des TS déshuilés (TSd) par extraction à l'hexane. Les TSe ont une teneur en protéines légèrement plus faible mais sont plus riches en énergie.
Afin de produire des valeurs de référence et connaître la diversité de valeurs nutritionnelles des différents lots disponibles pour les fabricants d'aliments du bétail, une étude a été menée dans le cadre du partenariat FeedOP entre Terres Inovia, Terres Univia, ARVALIS - Institut du végétal et Intercéréales. Des mesures de digestibilité chez le poulet de chair ont été réalisées sur cinq lots de TS produits en France de différentes provenances.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Matières premières et Aliments

Les cinq TS évalués viennent d'usines de trituration différentes et sont identifiés : TSe1 à TSe4 pour les 4 TSe et TSd pour le TS déshuilé servant de témoin.
Les aliments expérimentaux étaient constitués de 69,86 % de complémentaire (56,2 % maïs, 22,1 % TS, 18,6 % blé et 3,1 % huile de soja), du TS à tester, incorporé à un taux de 25 % et de l'aliment minéral et vitaminé (5,14 %). Du dioxyde de titane (TiO_2) a été introduit au taux de 0,50 % dans les aliments en tant que marqueur indigestible. Le complémentaire seul a été évalué afin de calculer par différence les valeurs de TS. Les aliments étaient présentés en granulés et ne contenaient pas d'additif anticoccidien ou d'enzymes.

1.2. Mesures sur animaux et analyses

Les poulets mâles de souche ROSS PM3 ont reçu jusqu'à J14 un aliment démarrage (protéines = 22,0 %, énergie métabolisable apparente à bilan azoté nul : EMAn = 2730 kcal/kg). À J14, une mise en lot en fonction du poids corporel a été effectuée et les aliments expérimentaux distribués.
Les performances de croissance des poulets (consommation, gain de poids et indice de consommation) ont été suivies de J14 à J28, afin de s'assurer que les TS n'avaient pas d'effet négatif sur l'ingestion et la croissance. Les poulets ont été hébergés en cage pendant l'essai. Ils l'étaient par groupe de trois de J14 à J21 puis en individuel, pour le bilan.
Des mesures de digestibilité ont été réalisées chez le poulet de chair au niveau fécal (énergie, protéine) et au niveau iléal (protéine, acides aminés (AA)).
Les bilans digestifs au niveau fécal sur les poulets ont été effectués de J22 à J25. La méthode de bilan digestif utilisée est celle avec marqueur (12 répétitions d'un animal par traitement), sans mise à jeun et avec collecte partielle des excrétas (Métayer *et al*., 2013). Les collectes de contenus iléaux ont été réalisées à J28. L'iléon est sectionné, et le contenu de la seconde moitié est récupéré par « flushing » puis congelé et lyophilisé. Un pool de contenus par traitement est constitué pour l'analyse des AA.
Pour chaque aliment, ont été mesurés les coefficients d'utilisation digestive apparent au niveau fécal (CUDa.f) de l'énergie et de la protéine en individuel, ainsi que les CUDa au niveau iléal (CUDa.i) de la protéine et des AA sur les pools. Les CUDa ainsi que les teneurs en nutriments digestibles et les EMAn ont ensuite été calculés pour chaque TS.
Le protocole utilisé a été évalué favorablement par le Comité d'Ethique n°19 et autorisé par le MESR conformément à la Directive 2010/63/UE relative à l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques.

1.3. Méthodes d'analyses chimiques et statistiques

Les analyses sur les tourteaux ont été réalisées selon les méthodes suivantes : matières minérales (Norme NF V18-101), cellulose brute (Norme NF EN ISO 6865), fibres Van Soest (Méthode Van Soest, Norme NF V18-122), parois végétales insolubles dans l'eau (Norme NF V18-111), matières grasse avec hydrolyse (méthode Randall, Norme NF EN ISO 11085), sucres (Méthode Luff-Schoorl, règlement CEE 152/2009 modifié par 691/2013), énergie brute (EB, calorimétrie (mode dynamique 25 °C), NF EN ISO 9831), matières azotées totales (MAT : N*6,25 - méthode Dumas, NF EN ISO 16634-1), AA (NF EN ISO 13903). La composition chimique des excrétas (azote, azote protéique et EB) a été obtenue à l'aide d'équations de prédiction dans le proche infrarouge (SPIR) développées par ARVALIS et après validation sur 20 % des échantillons par les méthodes de référence ci-dessus. La méthode de Terpstra et Hart a été utilisée pour mesurer l'azote protéique des excrétas. Les teneurs en TiO_2 ont été mesurées selon la méthode décrite par Short *et al.* (1996).
Les données sont analysées par un modèle à effets mixtes avec en effet fixe le tourteau incorporé dans l'aliment et en effet aléatoire l'animal.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les consommations des aliments contenant les différents TS testés ont varié de 998 ± 133 à 1073 ± 73 g sur la période J21-J28. Les poids à J28 ont fluctué de 1674 ± 188 à 1746 ± 86 g. Ces mesures ont été faites pour détecter des éventuels problèmes

d'appétence, d'acceptabilité ou de croissance avec les TSe, les aliments n'étant pas formulés pour être nutritionnellement comparables.

2.1. Composition chimique des TS

Les compositions chimiques des tourteaux sont variables (tableau 1). Le lot de TSe4 se différencie des autres TSe par une teneur plus faible en protéines et plus forte en MGh (-3,7 et +3,8 points en moyenne).
En ce qui concerne les critères fibres, le TSe3 a des valeurs plus élevées que les trois autres TSe, excepté pour la valeur en parois, équivalente à celle du TSe4. À noter que les teneurs en Fibres Van Soest (NDF, ADF et ADL) ainsi qu'en parois et en cellulose brute ont été mesurées après délipidation pour les TSe.
Pour les facteurs anti-trypsiques, les valeurs sont dans la plage normale de celles attendues et inférieures à la moyenne de l'observatoire Terres Inovia/Terres Univia 2019/20 pour les TS français (expeller à ce jour majoritaires : 3048 ± 1157 TIU/g ; min : 1965 ; max : 6549). Il ne devrait donc pas y avoir d'effet antinutritionnel de ces facteurs dans les TSe évalués.

2.2. Digestibilité et apport de nutriments

Dans le tableau 2, sont présentés les CUD et les teneurs en composants digestibles, mesurés au niveau fécal (énergie, MAT) et au niveau iléal (MAT, AA).

2.2.1. Energie et protéines mesurées au niveau fécal

La digestibilité de l'énergie des différents TSe est variable, avec des valeurs allant de 51,6 à 56,0 %. Celle du TSe4 est la plus élevée, mais elle ne diffère pas significativement de celle du TSe1. Les deux autres TSe, TSe2 et TSe3, ont une digestibilité diminuée de plus de 4 points par rapport au TSe4.
Le TSd quant à lui, montre une valeur de 58,4 %, qui ne diffère pas significativement des TSe4 et TSe1 malgré la différence numérique de plus de 2 points (56,0 et 54,9 %).
En termes d'apports, parmi les TSe, c'est le TSe4 qui fournit le plus d'énergie, avec une différence significative de +300 kcal/kg MS par rapport au plus faible (TSe3). En comparaison, le TSd est inférieur de 120 kcal/kg MS au TSe4, mais non significativement.
À la différence de la valeur énergétique, les valeurs de digestibilité de l'azote (CUDa.f N) des quatre TSe sont très proches (NS) avec une moyenne de 85,2 %. Elles sont toutes significativement plus faibles que celles du TSd (88,8 %). De ce fait, les apports en matière azotée digestible (MAD) ne varient que par la teneur en protéines dans les tourteaux.
Le niveau de MAD du TSe4 est significativement inférieur aux trois autres. Le TSe1 est supérieur de 1,5 point au TSe3 ($P < 0,05$) et le TSe2 est intermédiaire.
Le TSd, avec la teneur en protéines la plus élevée et une meilleure digestibilité de cette fraction, apporte significativement plus de MAD que les TSe, soit de 2,8 à 4,5 points en comparaison de trois d'entre eux et même 6,8 points par rapport au TSe4.
Deux profils semblent s'opposer pour les TSe, l'un plus riche en MAD et moins riche en énergie (TSe4) et l'autre à l'inverse (TSe1). Ces profils s'expliquent plus par leur composition chimique que par leur niveau de digestibilité. Les TSe2 et TSe3 ont des profils intermédiaires et très similaires sur ces critères.
Pour comparaison, le TSe testé dans le cadre du projet CASDAR VOCALIM (Danel *et al*., 2019) avait une EMAn plus élevée (3001 kcal/kg MS) et une MAD dans la moyenne (42,1 % MS).

2.2.2. Protéines et AA mesurés au niveau iléal

Les mesures de digestibilité au niveau iléal étant effectuées sur un pool par traitement, aucune comparaison statistique n'est possible. Les résultats sont donc commentés sur les valeurs numériques.
La digestibilité des protéines des TSe mesurée au niveau iléal, est très homogène, autour de 82 %, sauf pour le TSe3 qui présente une valeur plus élevée (85,1 %), plus proche du TSd (86 %).
Pour les AA, la digestibilité iléale est variable entre les TSe. Pour la lysine, regardée souvent comme marqueur d'une dégradation liée au procédé technologique d'obtention de la matière première, les différences ne semblent pas très fortes. Les TSe1 et TSe4 ont des coefficients plus élevés que les TSe3 et TSe2 (2,1 à 3,4 points). Le TSd a la valeur la plus élevée (89,9 %). Pour les autres AA essentiels (Méthionine + Cystéine, Tryptophane, Thréonine), seul le TSe2 semble se démarquer avec des valeurs plus faibles par rapport aux autres TSe et au TSd.
En termes d'apport d'AA digestibles, les valeurs des TSe sont trop proches pour commenter les écarts, d'autant plus qu'il n'y a pas de notion de variabilité ou d'analyse statistique. Les résultats sont également comparables à ceux de Danel *et al*. (2019). Cependant, ces mesures peuvent apporter des valeurs moyennes des CUDa.i de chaque AA et de leurs teneurs digestibles pour les TSe par rapport au TSd. Les teneurs moyennes des TSe pour les AA essentiels sont 13 % inférieures à celles du TSd (Figure 1).

2.2.3. Digestibilité des protéines : mesures fécales vs. iléales

De par la difficulté de réalisation des mesures de digestibilité iléale chez le poulet, il nous semble intéressant de comparer les valeurs obtenues sur fientes et celles sur les contenus iléaux.
Les valeurs de digestibilité de l'azote obtenues pour les TSe sont inférieures au niveau iléal par rapport au niveau fécal (différence de 2,7 à 4 points), mais elles sont assez homogènes (écart inférieur à 0,3 point), sauf pour le TSe3, qui présente une valeur élevée (85,1 %) et similaire à celle obtenue au niveau fécal. Un écart de 2,1 points est constaté pour le TSd, similaire aux TSe mentionnés précédemment.
Des valeurs plus faibles pour les mesures au niveau iléal étaient attendues. D'une part, parce que le

contenu prélevé sur une portion de plusieurs dizaines de centimètres d'iléon peut contenir des nutriments qui ne sont pas complétement digérés, ce qui réduit la valeur de digestibilité iléale obtenue. D'autre part, la fraction azotée non digestible par les poulets est utilisée par la microflore des caeca, ce qui augmenterait la valeur de digestibilité fécale obtenue, bien qu'à cet âge il est probable que l'activité bactérienne soit encore faible. À noter que le prélèvement iléal correspond au contenu présent dans l'iléon à l'instant précis de l'abattage et les quantités récupérées sont faibles et variables, alors que la collecte de fientes correspond à l'excrétion de trois jours, ce qui rend l'échantillon plus représentatif.

CONCLUSION

Les TSe ont des teneurs en EMAn, en protéines et en AA digestibles intéressantes. Deux TSe ont des EMAn supérieures ou similaires au TSd. Les teneurs en protéines et en AA digestibles sont variables selon les origines et inférieures au TSd d'environ 10 %.
La variabilité des résultats obtenus sur les TSe peut soit venir des origines de production, soit des lots testés. Peu de données étant disponibles sur ce type de tourteau, il serait intéressant de poursuivre cette étude. Compte tenu de la difficulté à mesurer les digestibilités au niveau iléal, mieux appréhender les différences de résultats aux niveaux iléal et fécal permettrait peut-être de trouver une alternative satisfaisante.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Danel J., Dusart L., Recoules E., Quinsac A., Tormo E., Vilariño M., 2019. 13èmes Journ. Rech. Avicoles et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 20-21 mars, 484-489.
INRA CIRAD AFZ © 2017. Tables INRA-CIRAD-AFZ d'alimentation des animaux. https://feedtables.com.
Métayer J.P., Lescoat P., Bastianelli D., Bouvarel I., Fournis Y., Vilariño M., 2013. 10èmes Journ. Rech. Avicoles et Palmipèdes à Foie Gras, La Rochelle, 26-28 mars, 767-771.
Short F.J., Gorton P., Wiseman J., Boorman K.N., 1996. Anim. Feed Sci. Tech., 59, 215-221.

Tableau 2. Valeurs de digestibilité et teneurs en composants digestibles au niveau fécal et iléal des différents tourteaux testés - moyenne et écart-type pour les mesures individuelles et valeurs mesurées pour les pools

	Tourteau / Digestibilité	TSe1	TSe2	TSe3	TSe4	TSd	Effet TS [1]
FECAL, en individuel	EMAn/EB, %	54,9 ab *4,8*	51,6 c *5,0*	51,7 bc *2,4*	56,0 a *4,1*	58,4 a *4,7*	*
	CUDa.f. N, %	85,9 b *2,4*	84,9 b *3,6*	84,8 b *2,4*	85,2 b *3,7*	88,8 a *4,3*	*
	EMAn kcal/kg MS	2802 ab *245*	2675 bc *258*	2627 c *124*	2924 a *216*	2811 ab *225*	*
	MAD % MS	43,5 b *1,2*	42,4 bc *1,8*	42,0 c *1,2*	39,5 d *1,7*	46,3 a *2,2*	***
ILEAL, analyses sur 1 pool par TS	CUDa.i N, %	81,9	82,2	85,1	82,1	86,8	*Mesures faites sur un pool par traitement, pas de statistiques possibles*
	CUDa.i. Lys, %	87,2	83,9	85,1	87,3	89,9	
	CUDa.i.Thr, %	83,2	72,7	84,9	80,6	82,2	
	CUDa.i. Met + Cys, %	75,1	70,7	77,0	78,0	76,1	
	CUDa.i. Trp, %	88,2	83,2	88,4	86,7	88,2	
	MAD, % MS	41,5	41,0	42,1	38,0	45,2	
	Lys dig, % MS	2,5	2,4	2,5	2,4	2,8	
	Thr dig, % MS	1,6	1,3	1,6	1,5	1,7	
	Met + Cys dig, % MS	1,1	1,0	0,9	1,0	1,2	
	Trp dig, % MS	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	

*EMAn : Energie Métabolisable apparente à bilan azoté nul ; EB : Energie Brute ; CUDa : Coefficient d'utilisation digestive apparent ; f : fécal ; i : iléal ; N : Azote ; MAD : Matières Azotées Digestibles ; Lys : Lysine ; Thr : Thréonine ; Met + Cys : Méthionine + Cystéine ; Trp : Tryptophane ; [1] Statistiques : une analyse de variance a été réalisée suivie d'un test par méthode des contrastes en post-analyse afin de ne considérer dans le dispositif complet que les valeurs « tourteau » et de mettre de côté la valeur du complémentaire calculée avec l'aliment sans tourteau à évaluer, permettant le calcul par différence ; * : P<0,05 ; *** : P<0,001.*

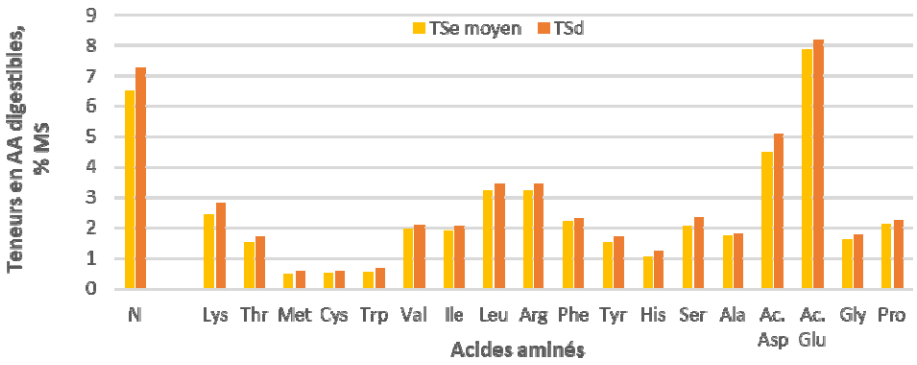
Les valeurs pour les autres AA sont disponibles sur demande auprès des auteurs.

Tableau 1. Composition chimique mesurée des matières premières testées (% MS ou kcal/kg MS)

Composition, %MS	TSe1	TSe2	TSe3	TSe4	TSd
MS, %	91,8	89,3	90,8	90,3	85,8
Matières minérales	6	6,2	6,3	5,9	6,9
Cellulose brute*	5,1	4,0	6,0	5,6	3,4
NDF*	9,7	7,3	13,2	10,1	11,7
ADF*	5,1	3,3	6,7	5,6	4,3
ADL*	0,4	0,6	0,8	0,7	1,2
Parois végétales insolubles dans l'eau*	18,0	17,5	19,9	19,7	16,4
Matières grasses avec hydrolyse	9,3	11,9	9,9	14,2	4,8
Sucres totaux	9,8	10,9	9,7	10	11,4
Energie brute, kcal/kg MS	5099	5188	5085	5225	4812
Facteurs anti-trypsiques (TIU/g)	2277	2579	2010	2961	1822
Protéines DUMAS Nx6.25	50,7	49,9	49,5	46,3	52,1
Teneur en protéines solubles	34,5	35,0	29,0	35,1	35,3
Solubilité des protéines KOH, %	68%	70%	59%	76%	68%
Lysine totale	2,88	2,82	2,90	2,80	3,13
Thréonine totale	1,93	1,86	1,91	1,85	2,09
Méthionine totale	0,68	0,65	0,55	0,60	0,71
Cystine + Cystéine totales	0,73	0,76	0,65	0,74	0,82
Méthionine + Cystine totales	1,41	1,41	1,20	1,34	1,53
Tryptophane total	0,68	0,68	0,63	0,62	0,74
Valine totale	2,40	2,28	2,31	2,23	2,47
Isoleucine totale	2,20	2,12	2,22	2,09	2,25
Leucine totale	3,80	3,74	3,79	3,55	3,93
Arginine totale	3,84	3,48	3,61	3,40	3,67
Phénylalanine totale	2,56	2,54	2,57	2,32	2,58
Tyrosine totale	1,78	1,83	1,88	1,73	1,88
Histidine totale	1,34	1,23	1,27	1,23	1,39
Sérine totale	2,58	2,53	2,53	2,42	2,72
Alanine totale	2,11	2,07	2,12	2,03	2,16
Acide Aspartique total	5,71	5,56	5,65	5,29	6,10
Acide Glutamique total	9,08	8,94	9,02	8,68	9,25
Glycine totale	2,08	2,04	2,08	2,00	2,12
Proline totale	2,52	2,59	2,47	2,37	2,64

*MS : Matière Sèche ; NDF : Fibres insolubles dans le détergent neutre ; ADF : Fibres insolubles dans le détergent acide ; ADL : Lignine ; N : azote. * analyses après délipidation pour les 4 TSe.*

Figure 1. Teneurs moyennes en AA digestibles des TSe par rapport au TSd évalué



N : Azote ; Lys : Lysine ; Thr : Thréonine ; Met : Méthionine ; Cys : Cystéine ; Trp : Tryptophane ; Val : Valine ; Ile : Isoleucine ; Leu : Leucine ; Arg : Arginine ; Phe : Phénylalanine ; Tyr : Tyrosine ; His : Histidine ; Ser : Sérine ; Ala : Alanine ; Ac. Asp : Acide Aspartique ; Ac. Glu. : Acide Glutamique ; Gly : Glycine ; Pro : Proline.

Valeur nutritionnelle de différents Tourteaux de Soja expeller français chez le poulet de chair



DANEL Justine[a], TORMO Elodie[b], TRAINEAU Maxime[a], QUINSAC Alain[c], PEYRONNET Corinne[b], VILARIÑO Maria[a]

[a] ARVALIS - Institut du végétal, 2 Pouline, 41100 VILLERABLE, France,
[b] Terres Inovia, 11 rue Monge, Parc industriel, 33600 PESSAC, France, [c] Terres Univia, 11 rue de Monceau, 75008 PARIS, France

Objectif de l'étude

Produire des valeurs nutritionnelles de référence des Tourteaux de Soja expeller (TSe) pour les fabricants d'aliments du bétail et approcher la variabilité existante en testant plusieurs lots provenant de différentes usines françaises.

Matériels et Méthodes

- ✓ **Matières premières :** 4 lots de TSe et 1 lot de TS déshuilé (TSd)
- ✓ **Animaux :** 1 essai avec 72 poulets à croissance rapide (♂ Ross PM3)
- ✓ **Mesures :**
  - Digestibilités apparentes de l'énergie et de la protéine au niveau fécal mesurées par individu,
  - Digestibilités apparentes de la protéine et des acides aminés (AA) au niveau iléal mesurées sur un regroupement de contenus iléaux par tourteau.

Résultats

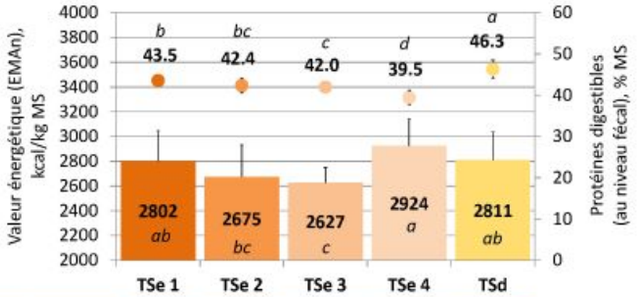
- ✓ **Profil chimique :** le lot de TSe4 se différencie des autres TSe (- protéines, + MG)
- ✓ **Valeur énergétique** *(Energie Métabolisable Apparente à bilan azoté nul ou EMAn)* **:**
  - Variable (écart maximal entre TSe ≈ 300 kcal/kg MS),
  - TSe 4 a la valeur la plus élevée,
  - TSe 1 non statistiquement différent mais écart > 100 kcal/kg MS par rapport à TSe 2 et 3,
  - TSe 1 similaire à TSd et TSe 4 supérieur.
- ✓ **Digestibilité des protéines** *(au niveau fécal)* **:**
  - Les quatre TSe : équivalents statistiquement (teneurs en protéines différentes donc teneurs en protéines digestibles différentes *(voir graphique)*,
  - TSd significativement supérieur ($P < 0,05$).
- ✓ **Teneurs en AA digestibles :**
  - Parmi les TSe, TSe 1 a toujours les valeurs les plus élevées pour les principaux AA (sauf Thr, similaire à TSe 3),
  - La hiérarchie varie entre les autres TSe selon l'AA d'intérêt.

Composition chimique des TSe évalués

Composition Tourteaux de Soja, % MS	TSe1	TSe2	TSe3	TSe4	TSd
MS, %	91,8	89,3	90,8	90,3	85,8
Matières minérales	6,0	6,2	6,3	5,9	6,9
Protéines DUMAS (Nx6,25)	50,7	49,9	49,5	46,3	52,1
Teneur en protéines solubles KOH	34,5	35,0	29,0	35,1	35,3
Solubilité des protéines KOH, %	68	70	59	76	68
Lysine totale	2,88	2,82	2,90	2,80	3,13
Thréonine totale	1,93	1,86	1,91	1,85	2,09
Méthionine + Cystine totales	1,41	1,41	1,20	1,34	1,53
Tryptophane total	0,68	0,68	0,63	0,62	0,74
Cellulose brute	4,9	3,8	6,1	5,2	3,4
NDF	9,7	7,3	13,2	10,1	11,7
Parois	16,6	16,6	19,0	18,7	16,4
MGh	9,3	11,9	9,9	14,2	4,8
Sucres totaux	9,8	10,9	9,7	10,0	11,4
Energie brute, kcal/kg MS	5099	5188	5085	5225	4812
Facteurs anti-trypsiques (TIU/g)	2277	2579	2010	2961	1822

*Avec TSe : Tourteau de Soja expeller ; TSd : TS déshuilé ; MS : Matière Sèche ; N : Azote; NDF : Fibres insolubles dans le détergent neutre ; Parois : Parois végétales insolubles dans l'eau ; MGh : Matière Grasse (analyse après hydrolyse) ; * analyses après délipidation pour les 4 TSe.*

Valeur énergétique (histogrammes) et teneurs en protéines (points) et AA (tableau) digestibles des Tourteaux de Soja



Teneurs digestibles au niveau iléal, % MS	TSe 1	TSe 2	TSe 3	TSe 4	TSd
Protéines	41,5	41,0	42,1	38,0	45,2
Lys	2,51	2,37	2,47	2,45	2,82
Thr	1,61	1,35	1,62	1,49	1,72
Met + Cys	1,06	1,00	0,93	1,05	1,16
Trp	0,60	0,57	0,55	0,54	0,65

a, b, c : des lettres différentes indiquent des moyennes significativement différentes (Méthode des contrastes, $P < 0,05$).
Valeurs présentées uniquement pour Lysine (Lys), Thréonine (Thr), Méthionine + Cystéine (Met+Cys) et Tryptophane (Trp)

Conclusions

- ✓ ***Les TSe ont des teneurs en EMAn, en protéines et en AA digestibles intéressantes. Deux TSe ont des EMAn supérieures ou similaires au TSd. Les teneurs en protéines et en AA digestibles sont variables selon les lots et inférieures au TSd d'environ 10 %.***
- ✓ ***Compte tenu de la difficulté à mesurer les digestibilités au niveau iléal, mieux appréhender les différences de résultats aux niveaux iléal et fécal permettrait peut-être de trouver une alternative satisfaisante.***

ARVALIS Institut du végétal

Terres Inovia l'agronomie en mouvement

Terres Univia l'interprofession des huiles et protéines végétales

EFFET DE L'AZOLLA SUR LES PARAMETRES ZOOTECHNIQUES ET BIOCHIMIQUES DU POULET DE CHAIR

Sahraoui Naima[1], Cherairi Nadjib[1], Ouachek Amir[1], Boukert Razika[1], Hornick Jean Luc[2]

[1]*UNIVERSITE DE BLIDA1 - 270, route de Soumaa, Blida, Algérie - 09400 BLIDA,*

[2]*UNIVERSITE DE LIEGE - Bât. B43BIS Nutrition animale en milieu tropical Quartier Vallée 2, avenue de Cureghem 10-4000 LIEGE 1 BELGIQUE*

nasahraoui@gmail.com

RÉSUMÉ

Contexte : Azolla est un aliment idéal pour le bétail, le poisson et le porc, de plus il peut également être utilisé comme biofertilisant dans une exploitation agricole. C'est pourquoi beaucoup d'agriculteurs s'orientent vers la culture de Azolla.

L'objectif de cette étude était de déterminer et d'évaluer les performances de croissance de poulets de chair nourris avec une ration commerciale complétée par de la farine de Azolla pinnata. Cette dernière est une fougère aquatique riche en protéines, capable de fixer l'azote atmosphérique par symbiose avec une cyanobactérie.

Matériel et Méthodes : L'expérience, qui a duré 51 jours, a été menée avec 200 sujets répartir en 2 lots (lot témoin recevait un aliment du type farineux adapté à chaque phase d'élevage et lot expérimental nourrit avec un régime du type farineux et complété avec 30% de Azolla pinnata).

Les résultats montrent que la supplémentation d'Azolla n'a pas eu d'effet significatif sur le poids vif, l'indice de consommation et les paramètres biochimiques (taux de cholestérol, protéines totales, la glycémie et créatinine). **Conclusion** : Azolla pinnata peut être incorporée dans l'alimentation du poulet de chair en améliorant les paramètres zootechniques et sans provoquer d'effet néfaste sur les paramètres biochimiques.

ABSTRACT

Effect of Azolla on zootechnical and biochemical parameters of broiler chicken

Background Azolla is an ideal feed for livestock, fish and pigs, and it can also be used as a biofertilizer on a farm. This is why many farmers are turning to the cultivation of Azolla.

The **objective** of this study was to determine the growth performance of broilers fed by commercial diet compared to supplemented diet with Azolla pinnata this plant is an aquatic fern rich in proteins, able to fix atmospheric nitrogen by symbiosis with a cyanobacterium.

Material and Methods: The experiment was carried out in 51 days, 200 animals were used and divided into 2 groups (control group received a floury type food adapted to each rearing step and experimental group fed with a floury type diet. and completed with 30% Azolla pinnata).

The **results** showed that Azolla supplementation had an effect on body weight, consumption index and good biochemical parameters (cholesterol, total protein, glycemia and creatinine).

Conclusion: Azolla pinnata can be incorporated into the feed of broilers by improving the zootechnical parameters and without causing any adverse effect on the biochemical parameters.

INTRODUCTION

L'Algérie n'importe plus de viande blanche depuis 2000 grâce à la politique du soutien public à cette filière du fait de son rôle stratégique dans la réalisation de la sécurité alimentaire. Il a été toute fois, souligné la détermination de l'Algérie de promouvoir la production de l'aliment de bétail pour atténuer la facture des importations en ces produits indispensables à la filière (Ministère de l'agriculture, 2018).

La filière chair fonctionne avec le modèle alimentaire basé sur les matières alimentaires « mais-tourteau de soja » dont des quantités immenses sont importées de l'étranger au fil des années (Belaid, 2015).

Cependant, dans le but de trouver une alimentation moins chère avec une valeur nutritive élevée, et pour minimiser le coup d'alimentation du poulet de chair, les recherches sur l'utilisation des fourrages verts et des aliments pour animaux se sont considérablement développées au cours des dernières années (Shukla et al., 2018).

Cette étude vise à étudier l'effet de l'introduction de Azolla pinnata dans le régime alimentaire du poulet de chair sur les paramètres biochimiques (protéines totales, cholestérol, minéraux), et les performances zootechniques (gain de poids, indice de consommation).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

Deux Cent (200) poussins d'un jour d'espèce *Gallus gallus domesticus*, appartenant à la souche de type chair Arbor acres. Ces animaux d'un poids homogène de 37g et de sexe mélangé provenant du même couvoir et répartis en 2 lots (soit 100 animaux avec 4 répétitions pour chaque lot).

Lot A : Identifié comme « lot témoin » recevait un aliment de type farineux adapté à chaque âge.

Lot B : Identifié comme « lot expérimental » recevait un aliment de type farineux et supplémenté avec Azolla pinnata (30%) à partir du 10ème jour.

L'expérimentation a duré 51 jours. Les poulets sont élevés sur un sol en béton recouvert d'une litière de sciure de bois dans les mêmes conditions d'humidité, de ventilation et de température.

1.2. Aliment

L'aliment utilisé est un aliment farineux composé de deux matières premières à savoir, maïs, tourteau de soja et d'un complexe minéraux-vitaminique (ration standard).

Azolla ; La production de Azolla pinnata a été réalisée grâce à deux bassins de dimensions 2 m/1,5 m situés à l'intérieur de la station de recherche. La récolte est faite quand Azolla pinnata a couvert toute la surface de l'eau.

1.3. Performances zootechniques

Dans cette étude, nous avons mesuré le poids vif, l'indice de consommation et le taux de mortalité des poulets témoins et du lot expérimental

Pour les analyses biochimiques huit (8) poulets ont été choisis au hasard à partir des deux lots témoin et expérimental soit quatre (4) poulets par lot (un poulet de chaque réplicat), dont la prise de sang est faite à l'âge de J51.

Les prélèvements sanguins ont été effectués à partir du sang veineux, les animaux ont été sacrifiés au niveau de la veine jugulaire. Les prélèvements sont réalisés dans des tubes à héparine.

Analyse statistique

Les différentes données obtenues ont été enregistrées et traitées dans le tableur du Microsoft Excel et les différents paramètres précédemment cités ont été calculés. Elles ont été soumises ensuite au test d'analyse de variance (ANOVA) à un facteur au seuil de 5% à l'aide du logiciel R.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats ont montré que la supplémentation d'Azolla pinnata a eu un effet sur les poids vifs, l'indice de consommation. Les poids vifs moyens étaient de 1326,18 ± 25,19 g pour le lot expérimental, comparables aux poids vifs moyens du lot témoin qui étaient de 1271,67 ± 24,8 g (tableau 1). Les indices de consommation étaient de 3,56 ± 0,32 et 3,47 ± 0,26 respectivement pour le lot témoin expérimental. Il n'y a pas eu de différence statistiquement significative entre les différents traitements au seuil de 5 %.

Les mortalités ont été réparties comme suit : Deux (02) cas de mortalité observés au niveau du lot nourri avec la ration standard, alors qu'il n'y a pas eu de mortalité dans le groupe nourri avec la ration supplémentée.

La présente étude a montré que Azolla pinnata n'a pas eu d'effet négatif sur l'état sanitaire des poulets.

Dans notre étude, il n'y avait pas de différence significative dans le gain de poids corporel entre les groupes. De même, Shukla et al. (2018) n'ont rapporté aucune différence significative dans le gain de poids. Par ailleurs, Alalade et Iyayi (2006) au Nigéria avaient montré que la farine de Azolla pinnata peut être incorporée à 10% dans la ration alimentaire des poussins sans affecter négativement la croissance de ces derniers.

L'indice de consommation du lot nourri avec les rations incorporant Azolla pinnata n'a pas été significativement différent de celui du lot témoin. Cela montre une bonne aptitude des poulets à valoriser les rations incorporant Azolla pinnata.

La présente étude a montré que Azolla pinnata n'a pas eu d'effet négatif sur l'état sanitaire des poulets. Ceci est en accord avec Basak et al. (2002) ainsi que Paudel et al.

(2015) qui avaient expérimenté Azolla pinnata sur des poulets de chair à des taux d'incorporation relativement élevés et avaient montré que Azolla pinnata n'a pas d'effet négatif sur l'état sanitaire des poulets (Ouedraodo et al, 2021).

Dans la présente étude, les valeurs des paramètres biochimiques (tableau 2) sont dans la fourchette indiquée dans d'autres études. Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes pour aucun des indices biochimiques sanguins.

Sujatha et al. (2013) ont également noté qu'il n'y avait pas de différence significative dans la concentration de protéines sériques entre le groupe témoin nourri avec un régime de base et un régime à base de Azolla pinnata chez les volailles.

Les résultats ont montré que le traitement n'affectait pas la concentration plasmatique de glucose car les valeurs obtenues se situaient dans la norme (Clinical Diagnostic Division, 1990). En outre, (Gonzalez-Barranco et al., 2004) ont indiqué que le métabolisme des glucides n'était pas affecté par le régime alimentaire

CONCLUSION

L'étude révèle que l'utilisation de 30% Azolla pinnata avec 70% d'aliments commerciaux dans l'alimentation des poulets de chair n'a pas eu d'effet significatif et a permis des performances équivalentes à celle du lot témoin sans provoquer d'effet néfaste sur les paramètres biochimiques sanguins.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alalade O.A., Iyayi E.E.,. 2006. Inter. J. Poult. Sci., (2), 137-141.

Basak B., Ahsan H.P., Muhammad S.R., Sharif U.T., Bimol C.R., 2002. Inter. J. Poult. Sci., 1(1), 29-34.

Belaid D., 2015. In : Filiaires avicoles en Algérie. Collections dossiers agronomiques, P6.

Clinical Diagnostic Division. 1990. In: Veterinary Reference Guide. Eastman Kodak Company, Rochester, New York.

Gonzalez-Barranco, J., Rios-Torres J..M. 2004. Nutr. Rev., (62), 134-139.

Ministere de l'Agriculture, 2018. Algérie - Evolution record de la production de viande blanche, rapport 25 octobre 2018

Ouedraogo B., Zara S., Nikiema J., ,Zoundi S., Sawadogo L. 2021. Int. J. Biol. Chem. Sci., 15(1), 212-223.

Paudel D.R, Pramila D., Kailash P.T., Dahal A. 2015. Int. J. Appl. Sci. Biotechnol., 3(4), 619-625.

Shukla M., Bhattacharyya A., Shukla P.K ., Roy D., Yadav B.., Sirohi R. 2018. Vet World., 11(4), 459–463.

Sujatha T., Udhayakumari D., Kundu A., Jeyakumar S., Sundar J., Kundu M.S. 2013.. Anim. Sci. (7),146–152.

Tableau 1. Paramètres zootechniques des animaux du lot témoin et expérimental

Paramètres	**Lot témoin**	**Lot expérimental**	**Signification**
Gain de poids	1271,67 ± 24,8g	1326,18 ± 25,19g	NS
Indice de consommation	3,56 ± 0,32	3,47 ± 0,26	NS
Mortalités	02 (0,02%)	00 (0%)	NS

NS=Non-significatif (p>0.05)

Tableau 2. Paramètres biochimiques des animaux des deux lots 'témoin et expérimental)

Paramètres	**Lot témoin**	**Lot expérimental**	**signification**
Glycémie (mg/dl)	89±10,2	91±13,1	NS
Protéines totales (g/dl)	3,33±0,15	3,49±0,17	NS
Créatinine (mg/dl)	0,34±0,25	0,36±0,28	NS
Cholestérol (mg/dl)	136,4±3,51	132,6±3,47	NS

NS=Non-significatif (p>0.05)



EFFET DE L'AZOLLA SUR LES PARAMETRES ZOOTECHNIQUES ET BIOCHIMIQUES DU POULET DE CHAIR

Sahraoui Naima[1], Cherairi Nadjib[1], Ouachek Amir[1], Boukert Razika[1], Hornick Jean Luc[2]
nasahraoui@gmail.com

14èmes JRA-JRFG



RÉSUMÉ Azolla est un aliment idéal pour le bétail, le poisson et le porc, de plus il peut également être utilisé comme biofertilisant dans une exploitation agricole. C'est pourquoi beaucoup d'agriculteurs s'orientent vers la culture de Azolla .

L'objectif de cette étude était de déterminer et d'évaluer les performances de croissance de poulets de chair nourris avec une ration commerciale complétée par de la farine de Azolla pinnata. Cette dernière est une fougère aquatique riche en protéines, capable de fixer l'azote atmosphérique par symbiose avec une cyanobactérie. L'expérience, qui a duré 51 jours, a été menée avec 200 sujets répartir en 2 lots (lot témoin recevait un aliment du type farineux adapté à chaque phase d'élevage et lot expérimental nourrit avec un régime du type farineux et complété avec 30% de Azolla pinnata). Les résultats montrent que la supplémentation d'Azolla n'a pas eu d'effet significatif sur les poids vifs, l'indice de consommation et les paramètres biochimiques (taux de cholestérol, protéines totales, la glycémie et créatinine. en concluons que l'Azolla pinnata peut être incorporée dans l'alimentation du poulet de chair en améliorant les paramètres zootechniques et sans provoquer d'effet néfaste sur les paramètres biochimiques.

INTRODUCTION

L'Algérie n'importe plus de viande blanche depuis 2000 grâce à la politique du soutien public à cette filière du fait de son rôle stratégique dans la réalisation de la sécurité alimentaire. La filière chair fonctionne avec le modèle alimentaire basé sur les matières alimentaires « mais-tourteau de soja » dont des quantités immenses sont importées de l'étranger au fil des années (MA, 2018).. Cependant, dans le but de trouver une alimentation moins chère avec une valeur nutritive élevée, et pour minimiser le coup d'alimentation du poulet de chair, les recherches sur l'utilisation des fourrages verts et des aliments pour animaux se sont considérablement développées au cours des dernières années **(Shukla et al., 2018).**

OBJECTIFS

l'effet de l'introduction de Azolla pinnata dans le régime alimentaire du poulet de chair sur les paramètres biochimiques et les performances zootechniques

MATERIELS ET METHODES

1. Animaux

Deux Cent (200) poussins d'un jour



- Espèce *Gallus gallus domesticus*
- Souche: Arbor acres
- Poids 37g, sexe mélang

Lot témoin: recevait un aliment de type farineux adapté à chaque âge.

Lot expérimental :un aliment farineux et supplémenté avec Azolla pinnata **(30%)** à partir du 10ème jour.

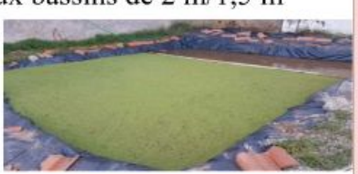
L'expérimentation a duré 51 jours.

2. Aliment

Aliment maïs; tourteau de soja; minéraux, vitamines

Azolla: La culture dans deux bassins de 2 m/1,5 m





3. Performances zootechniques et biochimiques

Mesuré poids vif; l'IC et le taux de mortalité des poulets

- **Analyses biochimiques:** huit (8) poulets soit quatre (4) poulets par lot à l'âge de J51

Paramètres analysés: Glycémie, protéines, créatinine et cholestérol





RESULTATS ET DISCUSSION

Paramètres zootechniques (Tableau 1):

Tableau 1. Paramètres zootechniques des animaux des deux lots

Paramètres	Lot témoin	Lot expérimental	Signification
Gain de pds	1271,67 ± 24,8g	1326,18 ± 25,19g	NS
I C	3,56 ± 0,32	3,47 ± 0,26	NS
Mortalités	02 (0,02%)	00 (0%)	NS

L'Azolla pinnata n'a pas eu d'effet négatif sur l'état sanitaire , ceci est en accord **(Ouedraodo et al, 2021).**

Pas de différence significative dans le gain de poids corporel et l'IC entre les groupes **Shukla et al. (2018).**

- Paramètres biochimiques (tableau 2).

Pas d'effet significatif sur le profil biochimique

Tableau 2. Paramètres biochimiques des animaux des deux lots

Paramètres	Lot témoin	Lot expérimental	signification
Glycémie (mg/dl)	89±10,2	91±13,1	NS
Protéines totales (g/dl)	3,33±0,15	3,49±0,17	NS
Créatinine (mg/dl)	0,34±0,25	0,36±0,28	NS
Cholestérol (mg/dl)	136,4±3,51	132,6±3,47	NS

CONCLUSION

L'étude révèle que l'utilisation de 30% Azolla pinnata avec 70% d'aliments commerciaux dans l'alimentation des poulets de chair n'a pas eu d'effet significatif et a permis des performances équivalentes à celle du lot témoin sans provoquer d'effet néfaste sur les paramètres biochimiques sanguins.

REFERENCES BIBLIOGRAFIQUE

1. Clinical Diagnostic Division. 1990. In: Veterinary Reference Guide. Eastman Kodak Company, Rochester, New York.
2. Gonzalez-Barranco, J., Rios-Torres J..M. 2004. Nutr. Rev., (62), 134-139.
3. Ministere de l'Agriculture, 2018. Algérie - Evolution record de la production de viande blanche, rapport 25 octobre 2018
4 Ouedraogo B., Zara S., Nikiema J., ,Zoundi S., Sawadogo L. 2021. Int. J. Biol. Chem. Sci., 15(1), 212-223.
5.Shukla M., BhattacharyyaaA., Shukla P.K ., Roy D., Yaday B.., Sirohi R. 2018. Vet World , 11(4), 459–463.

Effets des feuilles de *Manihot esculenta* dans l'aliment sur les performances de croissance des poulets de chair Sasso (XL431NA).

Performances de croissance des poulets de chair nourris aux rations à base des feuilles de manioc.

Ngueda Djeuta O. R[1], Tona. K[1]

[1]Centre d'Excellence Régional sur les Sciences Aviaires (CERSA), Université de Lomé-Togo.

djeutaraphaelle@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Cette étude a été réalisée pour déterminer l'effet de l'utilisation des feuilles de *Manihot esculenta* sur les performances de croissance et les paramètres biochimiques des poulets de chair Sasso. Un total de 200 poussins d'un jour de souche Sasso (XL431NA), ont été réparties en deux lots : [(FME0 et FME5) contenant respectivement 0 % et 5 % de feuilles de manioc]. Dans chaque lot il y'avait cinq répétitions de 20 poulets chacun. Au cours de l'expérimentation, les données relatives à la consommation alimentaire, aux poids vifs des poulets ont été enregistrées chaque semaine. À 12 semaines d'âge les animaux ont été abattus pour le prélèvement des organes. Des échantillons de sang ont été également prélevés pour des analyses biochimiques. Les résultats ont montré que la consommation alimentaire était plus élevée ($p<0,05$) chez les poulets nourris avec l'aliment contenant 5 % de feuilles de manioc. Le gain de poids était faible avec un indice de consommation plus élevé ($p>0,05$) chez les poulets nourris avec la ration contenant 5 % de feuilles de manioc. De plus le rendement de la carcasse à diminuer de même que le poids relatif du gras abdominal alors que ceux du foie, du cœur et du gésier n'ont montré aucune différence significative entre les traitements. De même, les concentrations sériques des triglycérides et du cholestérol total ont significativement diminué avec l'incorporation des feuilles de manioc dans l'aliment des poulets. L'étude a révélé que, les performances de croissance sont détériorées lorsque 5 % de feuilles de manioc sont incorporées dans l'aliment des poulets. A cet effet le niveau efficace d'incorporation des feuilles de manioc dans l'aliment des poulets de chair devrait être déterminée.

ABSTRACT

Effects of Manihot esculenta leaves in feed on growth performance of Sasso broilers

The study was conducted to evaluate the effect of cassava leaf meal (MELM) incorporated in diets on growth performance and biochemical parameters of broilers. Two hundred (200) Sasso birds (XL431NA), were used and equally divided into two (2) dietary treatments with five (5) replications with 20 birds each, reared on deep litter system for 12 weeks. Treatments diets were: [(ME0 (0% MELM) and ME 5% (5% MELM). During the experimental period, feed intake, feed conversion ratio as well as body weight and body weight gain were recorded weekly. At 12 weeks of age, 5 birds per/treatment were randomly selected, isolated in slaughtered cages to determine relative organ weights and carcass yield. Blood samples were also taken for biochemical analysis. Results showed that feed intake (FI) was significantly ($p< 0.05$) higher for ME5 group as compared to control. Average body weight and weight gain of birds in the ME5 group were statistically ($p >0.05$) lower but had comparatively highest feed conversion ratio. Carcass weight and abdominal fat of ME5 group were lower than the ME0 group. The liver, gizzard and heart weight showed not significant ($p< 0,05$) differences among treatments. Similarly, serum concentrations of triglyceride and total cholesterol were significantly ($p> 0,05$) decreased with the incorporation of cassava leaves in the chicken feed. The study revealed that incorporating 5% cassava leaf in diets of Sasso chickens decreased growth performance. For this purpose, the effective level of incorporation of cassava leaves in broiler feed should be determined.

INTRODUCTION

Depuis quelques années, un intérêt croissant se manifeste en Afrique pour l'aviculture moderne. Ce secteur connaît un regain d'intérêt avec la mise en place d'une politique d'intensification de l'élevage des espèces à cycle court, représenté principalement par le poulet, en vue d'augmenter la production nationale. Les rendements importants obtenus à ce niveau permettent d'affirmer que l'aviculture peut jouer un rôle prépondérant dans la couverture des besoins des populations en protéines animales (Ndegwa et al., 2001). Malgré cela, ce secteur fait face à de nombreux obstacles parmi lesquels le problème d'alimentation figure en bonne place. En effet, représentant 60 à 80 % du coût de production, l'alimentation avicole est surtout basée sur des ressources alimentaires importées (maïs, soja, acides aminés synthétiques, prémix, etc.) (Tandiang et al., 2010). Ainsi, la problématique de l'approvisionnement et de la disponibilité en intrants alimentaires est devenue de nos jours, d'autant plus cruciale qu'on assiste sur les marchés au renchérissement du prix des matières premières. En milieu tropical, l'un des objectifs des scientifiques est de trouver des alternatives pour l'alimentation des monogastriques et plus précisément celle des volailles, disponibles à faibles coûts afin d'assurer la durabilité des activités d'élevage. La valorisation des aliments moins onéreux et peu consommés par l'homme, telles les feuilles de manioc, constitue une alternative pour améliorer la rentabilité des élevages avicoles. Plusieurs études ont indiqué que les feuilles de manioc récoltées au stade végétatif contiennent plus de 25 % de protéines brutes de bonne qualité et pourraient être valorisées pour l'alimentation de la volaille africaine (Wanapat, 2001). Outre leur rôle de substituts nutritionnels, les feuilles de manioc présentent l'avantage d'apporter des protéines qui sont peu disponibles dans cette région Hundonougbo et al. (2012) ; Galon et al. (2017) ; ont rapporté ses effets significatifs dans l'alimentation des poules pondeuses, poulet de chair à croissance rapide et pintade. Néanmoins, ces auteurs n'ont pas mis en évidence l'impact de ces feuilles dans l'aliment sur les performances zootechniques des poulets de chair à croissance lente. La présente étude vise à évaluer l'influence de l'incorporation des feuilles de *Manihot esculenta* dans l'aliment sur la croissance des poulets de chair Sasso.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

L'étude a été menée au Centre d'Excellence Régional sur les Sciences Aviaires, Université de Lomé au Togo (CERSA-UL. Les feuilles ont été récoltées fraîches dans les champs des agriculteurs au Togo. Après la récolte, elles ont été lavées et séchées pendant 4 jours à l'abri de la lumière dans une chambre climatisée à 17°C, puis broyées à la main avant d'être incorporées dans l'aliment. Un total, de 200 poussins d'un jour de souche Sasso (XL431NA) a été utilisé dans le cadre de cette étude. Ces poussins ont été répartis de manière aléatoire en 2 lots à raison de 5 répétitions de 20 sujets chacun. Les deux lots ont reçu respectivement une ration témoin dépourvue de feuilles de manioc (FME0) et une ration test contenant 5 % de feuilles de manioc (FME5). Le choix de ce taux est justifié par les travaux de Ngueda et al. (2020), qui ont montré une amélioration des performances de production d'œufs lorsque ces feuilles sont incorporées dans l'aliment des poules pondeuses. Pendant l'expérimentation, les poussins des différents traitements ont reçu un aliment démarrage et croissance-finition dont la composition des rations et les valeurs nutritives calculées sont indiquées dans le tableau1. Au cours des 12 semaines de l'expérimentation, l'eau et l'aliment ont été distribués ad libitum. Les poussins ont été pesés hebdomadairement. La quantité d'aliments distribuée quotidiennement a été enregistrée, l'ingéré alimentaire quant à lui, a été calculé à la fin de chaque semaine.

À la fin de l'expérimentation, un échantillon de 15 poulets pris au hasard dans chaque traitement a été pesé et abattu. La graisse abdominale et les organes (cœur, foie et gésier) ont été prélevés et pesés. La carcasse obtenue de chaque poulet a été pesée. En fin, Les échantillons de sang ont été recueillis dans un tube de conservation du sang sans anticoagulant pour déterminer les concentrations en protéines totales, acide urique, triglycérides et cholestérol total.

1.2. Collecte des données et calcul des variables zootechniques

Les animaux ont été pesés individuellement tous les 7 jours à jeun, à la même heure à l'aide d'une balance électronique de portée 5 kg et de précision 1 g. Ces données collectées ont permis de calculer de différentes variables zootechniques (Kana et al.,2015). Ainsi, la consommation alimentaire journalière (CAJ), le gain moyen quotidien (GMQ), l'indice de consommation (IC) hebdomadaire ont été calculés selon les expressions ci-dessous :

$$\boldsymbol{CAJ} = \frac{\text{Quantité d'}\textit{aliment}(\textit{ distribuée} - \text{ refusée})}{\text{Nombre de sujet x Nombre de jour de la semaine}}$$

$$\mathbf{GMQ} = \frac{\text{Gain de poids pendant une semaine}}{\text{7jours de la semaines}}$$

$$\mathbf{IC} = \frac{\text{Quantité d'aliment consommé pendant la semaine (g)}}{\text{Gain de poids au cours de la semaines (g)}}$$

1.3. Évaluation des paramètres biochimiques

Pour la détermination des concentrations sériques, des échantillons de sang ont été prélevés chez 15 poulets/ traitement à partir de la veine allaire dans un tube sec

sans anticoagulant. Ces échantillons ont été recueillis dans des tubes secs et centrifugés à une vitesse de 3 000 tours pendant 15 minutes pour séparer le sérum. Les sérums obtenus ont été utilisés pour déterminer la concentration des protéines totales, d'acide urique, des triglycérides et du cholestérol total. Toutes les analyses ont été effectués avec des kits commerciaux fabriqués par CYPRESS DIAGNOSTIC à l'aide d'un lecteur de plaque de marque EPOCH 2 selon les principes ci-après (figure 3)

1.4. Analyse statistique

Les données collectées ainsi que les calculs effectués ont fait l'objet d'un traitement statistique à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 5. Le test *t* de student a été utilisé pour analyser les données collectées au cours de l'expérimentation Les résultats quantitatifs sont exprimés par la Moyenne ± Erreur standard sur la moyenne et en pourcentage. Les différences statistiques ont été considérées comme significatives à $p < 0.05$

2. RESULTATS

2.1. Effet de l'incorporation des feuilles de *Manihot esculenta* sur la consommation alimentaire.

La consommation alimentaire journalière moyenne par poulet sur toute la période de l'expérimentation était plus élevée ($p < 0,05$) chez les poulets nourris avec l'aliment contenant 5 % de feuilles de manioc (figure1). L'évolution du poids vif des poulets en fonction de l'âge de 0 à 7 semaines d'expérimentation était similaire. Par la suite, les sujets du lot témoin ont connu un accroissement en poids vif plus élevé que celui du lot ME5 ($p < 0,05$) et ce, jusqu'à la 12ème semaine d'âge (figure 2).

2.2. Effet de l'incorporation des feuilles de Manihot esculenta sur l'indice de consommation alimentaire et le taux de mortalité

L'indice de consommation était significativement ($p > 0,05$) plus élevé chez les poulets qui ont consommé l'aliment avec les feuilles de manioc (figure 3). Alors que, le nombre de poulets morts durant toute la période de l'expérimentation n'était toutefois pas significatif ($p > 0,05$) entre les traitements (figure 4).

2.3. Effet de l'incorporation des feuilles de Manihot esculenta sur le rendement de la carcasse et le poids relatif des organes.

Le tableau 2, illustre respectivement le rendement de la carcasse, le poids relatif du gras abdominal, foie, cœur et du gésier en fonction des traitements. Comparé au lot témoin (ME0) le rendement de la carcasse et le poids relatif du gras abdominal du lot ME5 était plus faible. Tandis que, les poids relatifs du foie, gésier et du cœur ne montrent aucune différence significative entre les deux lots après 12 semaines d'élevage.

2.4. Effet de l'incorporation des feuilles de *Manihot esculenta* sur la concentration en sérum sanguin des protéines totales, Acides urique, Triglycérides et Cholestérol totales

Les concentrations sériques des triglycérides et cholestérol total ont diminué significativement ($p > 0,05$) avec la consommation des feuilles de manioc par les poulets. Par contre, les concentrations sériques en protéines totales et d'acide urique ont été similaires ($p > 0,05$) entre les traitements (tableau 3).

DISCUSSION

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'impact de l'utilisation des feuilles de manioc sur les performances de croissance et les paramètres biochimiques des poulets de chair. L'analyse des résultats de notre étude révèle que la supplémentation de l'aliment avec 5 % de feuilles de manioc à une influence sur les performances zootechniques des poulets de chair. L'augmentation de la consommation alimentaire serait due à la palatabilité, liée à une réduction des substances antinutritionnelles contenues dans les feuilles de *M. esculenta (*Ngueda et al.,2020). Des résultats similaires aux nôtres ont été rapportés par Ravindran et al. (1983) avec l'incorporation des feuilles de manioc dans la ration des poulets de chair à croissance rapide. La baisse de la croissance observée au cours de cette étude serait liée à la diminution du gain de poids corrélée négativement à celle de l'ingéré alimentaire. Ces tendances sont souvent enregistrées chez les poulets à croissance rapide lorsque les feuilles de *M. esculenta sont* incorporées à des doses élevées ; ce qui augmente l'effet négatif des fibres alimentaires et des facteurs antinutritionnels sur la productivité (Iheukwumere et al., 2008). L'augmentation de l'indice de consommation alimentaire indique, les poulets de ce lot valorisent moins la ration contenant les feuilles de *Manihot esculenta.* Les résultats ont révélé également que, quel que soit le stade de production (poulets) la concentration des protéines totales et d'acide urique n'a pas présenté de différence significative entre les différents traitements. Ceci s'expliquerait que, ces paramètres auraient été utilisées dans les réactions de synthèse énergétique pendant la phase de croissance (Nideou et al., 2017). Par rapport aux témoins, le rendement de la carcasse était moins élevé dans le lot des poulets nourris avec l'aliment contenant les feuilles de manioc. Ce résultat est en accord avec ceux d'El-Tazi (2014) qui ont montré que le poids vif à l'abattage et le rendement carcasse sont corrélés positivement. Concernant les organes, l'absence de différence significative entre les traitements sur le poids relatif du foie, cœur et du gésier confirme les travaux de Khaligh *et al*. (2011) qui ont montré que la supplémentation par les additifs alimentaires au cours

de l'élevage des poulets n'affecte pas la proportion du foie, cœur et du gésier. La diminution de la graisse abdominale chez les poulets de notre étude serait due aux propriétés hypolipidémiantes des feuilles *de M. esculenta dont* la consommation sur une longue durée entrainerait une baisse du stockage des triglycérides et du cholestérol total dans les cellules adipeuses. Ce qui expliquerait la diminution de leurs concentrations sériques à la fin de l'expérimentation. L'absence de différence significative sur les taux de mortalité entre les traitements pourrait indiquer que, ces feuilles ne contiendraient donc pas des substances pouvant entrainer des effets néfastes sur la santé des poulets

CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que l'apport de 5% de feuilles de *M. esculenta* dans l'aliment pendant la phase d'élevage a réduit la croissance des poulets de chair. Sur le plan biochimique, l'utilisation de ces feuilles dans l'alimentation des poulets de chair n'ont pas amélioré les paramètres biochimiques tels que, les triglycérides et le cholestérol total. Par ailleurs, ce dernier peut être utile pour améliorer la qualité de la viande. Car, le taux de gras abdominal a été réduite avec la présence des feuilles de *M. esculenta* dans l'aliment

REMERCIEMENTS

Cette étude a bénéficié d'un financement de la Bank mondiale. Les auteurs remercient le centre d'Excellence Régional sur les Sciences Aviaires de l'Université de Lomé (CERSA-UL) et les étudiants ayant participé à l'étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

El-Tazi S.M., 2014. Effect of feeding different levels of *Moringa* leaf meal on the performance and carcass quality of broiler chicks. International Journal of Scientific Research, 3:147-151

Galon D., Eloiza M., Lorenzo and Florencia C., 2017. Growth and Egg Production Performance of Dekalb Layers (*Gallus gallus domesticus*) supplemented with Cassava Leaf Meal (*Manihot esculenta* Crantz). Asian Journal Agriculture and Biology, 5 :83-87.

Houndonougbo M.F., chrysostome V.P., and Houndonougbo C.A.A.M., 2012. Performances de ponte et qualité des œufs des poules pondeuses ISA brown alimentées avec des rations à base de feuilles séchées de manioc *(Manihot esculenta* Crantz). Journal of Biology Chemistry Sciences, 6: 1950-1959

Iheukwumere F.C., Ndubuisi E.C., Mazi E.A., and Onyekwere M.U., 2008. Performance, nutrient utilization and organ characteristics of broilers fed cassava leaf meal (M*anihot esculenta)*. Pakistan Journal of Nutrition, 7: 13-16

Kana J., Doue M., Kreman K., Diarra M., Mube K.H., et Teguia A., 2015. Effet du taux d'incorporation de la farine de patate douce crue dans l'aliment sur les performances de croissance du poulet de chair. *Journal of Applied Biosciences,* 91 :8539 – 8546.

Khaligh F., Sadeghi G., Karimi A., and Vaziry A., 2011. Evaluation of different medicinal plants blends in diets for broiler chickens. Journal of Medicinal Plant Research, 10: 1971-1977

Ndegwa J.M., Mead R., Norrish P., Kimani C.W., Wachira A.M. 2001. The growth Performance of indigenous chickens fed diets containing different protein during Rearing. Tropical. Animal. Heath Production., 33, 441-448.

Ngueda D.O., Voemesse K., Teteh A., Decuypere E., Gbeassor M., and Tona K., 2020. Nutritional effects of dietary inclusion of *Manihot esculenta* Crantz leaf on Isa Brown older layers performance International Journal of poultry science, 5: 1682-8356.

Nideou D., N'nanlé O., Teteh A., Decuypere E., Gbeassor M., and Tona K., 2017. Efficacy of oil supplementation of productive physiologique. Journal of poultry Science, 7: 1682-8356

Ravindran V., Kormegay E.T., Notter D.R., 1983. Utilization of cassava leaf meal in swine diets. Animal Science Research Report, Virginia Agricultural Experiment Station 4: 92-96

Tandiang D., Abdoulaye D., Mergeai G., Youssouf I. et Hornick J.L., 2010. Effect of groundnut cake substitution by glandless cottonseed kernels on broilers production: animal performance, nutrient digestibility, carcass characteristics and fatty acid composition of muscle and fat. International Journal Poultry, 9: 473-481

Wanapat M., 2001.The role of cassava hay as animal feed. In: Proceedings of the International Workshop on "Current Research and development on Use of Cassava as Animal feed", Khoo Kaen, Thaïland, 24 :13-20.

Nutriments	Démarrage		Croissance-finition	
	Valeurs nutritives calculées			
	FME0	FME5	FME0	FME5
Energie Métabolisable (kcal/kg)	2921	2925	2916	2915
Protein brute (%)	21,29	21,14	19,02	19 ,09
Matière grasse (%)	6,28	6,36	5,23	5,31
Fibre brute (%)	3,30	3,71	3,10	3,38
Lysine (%)	1,21	1,44	1,28	1,32
Méthionine (%)	0,50	0,49	0,47	0,47
Methionine. + Cysteines (%)	0,76	0,72	0,70	0,67
Calcium (%)	0,92	0,79	0,92	0,98
Phosphore (%)	0,58	0,56	0,57	0,54

Tableau 1 : Compositions nutritionnelle des aliments

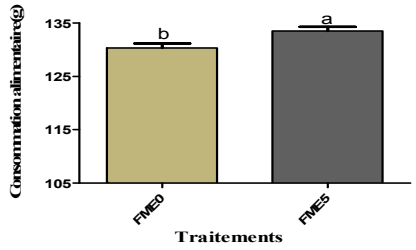


Figure 1 : Consommation alimentaire quotidienne fonction des traitements. *[a et b] indiquent une différence significative entre les lots (p<0,05).*

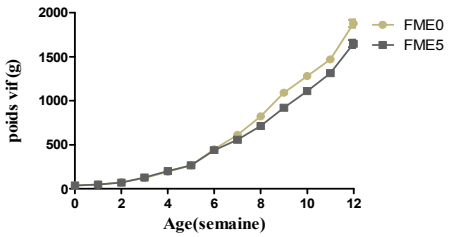


Figure 2 : Évolution du poids vif des poulets en

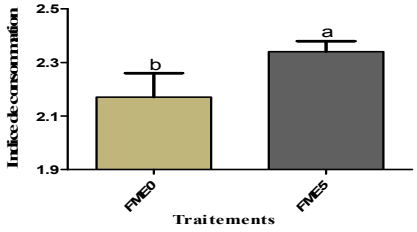


Figure 3 : Indice de consommation alimentaire

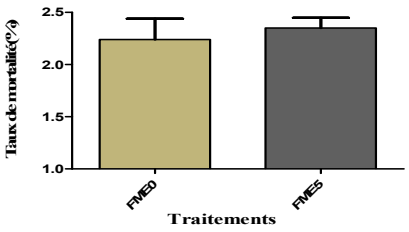


Figure 4 : Taux de mortalité des poulets en fonction des traitements**.** *[a et b] indiquent une différence significative entre les lots (p<0,05).*

Tableau 2. Rendement de la carcasse et le poids relatif des organes en fonction des traitements

Organes	Traitements		
	FME0	FME5	Probabilité
Rendement carcasse (%)	68,97 ± 0,53[a]	66,43 ± 0,57[b]	0,01
Gras abdominale (%)	1,83 ± 0,20[a]	1,20 ± 0,15[b]	0,01
Foie	1,98 ± 0,06	2,01 ± 0,05	0,30
Cœur	0,52 ± 0,02	0,51 ± 0,02	0 ,45
Gésier	3,04 ± 0,17	3,20 ± 0,11	NS

NS= non significatif. *Sur chaque ligne, les valeurs ne partageant pas les mêmes lettres sont significativement différent (p<0,05).*

Tableau 3. Concentration en sérum sanguin des protéines totales, Acides urique, Triglycérides et Cholestérol totales

Paramètres	Traitements		
	F ME0	F ME5	Probabilité
Protéines totales	3,47 ± 0,14	3,83 ± 0,15	0,09
Acides uriques	54,65 ± 7,39	45,47 ± 8,56	0,43
Triglycérides	15,09 ± 1,16[a]	11,65 ± 1,31[b]	0,001
Cholestérol totales	25,88 ± 0,95[a]	23,48 ± 0,73[b]	0 ,006

Sur chaque ligne, les valeurs ne partageant pas les mêmes lettres sont significativement différent (p<0,05)

UNE CONSENSUS PHYTASE BACTERIENNE VARIANT PHYG MAINTIENT LES PERFORMANCES DE POULETS NOURRIS SANS PHOSPHORE INORGANIQUE

Debicki-Garnier Anne Marie[1], Bello Abiodun[1], Dersjant-Li Yueming[1], Van Eerden Ellen[2], Kwakernaak Cees[2], Marchal Leon[1] et Messager Bertrand[3]

[1]DANISCO ANIMAL NUTRITION, IFF - Willem Einthovenstraat 4 - 2342 BH OEGSTGEEST
[2]SCHOTHORST FEED RESEARCH BV - Meereotenweg 26 - NL 8218 LELYSTAD
3 ALTILIS NUTRITION ANIMALE - 3 rue Gustave Eiffel - 33910 SAINT-DENIS-DE-PILE
Anne-Marie.Debicki-Garnier@iff.com

RÉSUMÉ
Dans un contexte de durabilité des productions animales et de raréfaction de certains ingrédients, il est urgent de développer des stratégies pour élever des volailles sans ajout de phosphore inorganique (Pi). La majeure partie du phosphore apporté par les matières premières végétales, sous forme de phytate, n'est pas disponible pour les monogastriques. L'efficacité de l'ajout d'une phytase dans les aliments est bien documentée, mais les études de remplacement total du Pi, en particulier durant la période de démarrage, sont rares. L'objectif de cette étude était de tester une nouvelle consensus 6 phytase bactérienne, variant PhyG, dans des formules sans Pi, pendant toute la durée d'élevage, chez des poulets nourris avec des aliments à base de plantes. Un total de 26240 poulets Ross 308, de sexes mélangés, étaient répartis en 4 traitements, avec 8 répétitions par traitement, et 820 poussins par répétition, de 1 à 37 jours. Le traitement 1 était un témoin positif, nutritionnellement adéquat. Dans le traitement 2, l'énergie était réduite de 75 kcal avec ajout de 2000 U de xylanase. Les traitements 3 et 4 étaient reformulés sans ajout de Pi et réduits en calcium de 0,15%. Ils étaient supplémentés avec 3000 FTU/kg de cette nouvelle phytase en démarrage, 2000 FTU/kg en croissance et 1000 FTU/kg en finition. Les données ont été analysées par un test à deux facteurs ANOVA. Il n'y avait pas d'interaction entre phytase et xylanase pour aucun paramètre pendant toute la durée de l'essai. La phytase a maintenu le poids vif et amélioré significativement l'indice de consommation par rapport au témoin positif à 37 jours d'âge – 1,418 versus 1,452 (P<0,05). L'ajout de phytase a maintenu la teneur en cendres du tibia à 21 et 36 jours d'âge et augmenté significativement la force à la rupture à 21 jours d'âge (P<0,05). Le coût alimentaire des oiseaux nourris avec des aliments sans Pi avec phytase a été réduit, particulièrement en présence de xylanase. Cette étude prouve la faisabilité du remplacement total du phosphore inorganique en production de poulet dans des conditions terrain.

ABSTRACT
A PhyG-variant bacterial consensus phytase maintains performance of chickens fed without inorganic P.
In a context of animal production sustainability and scarcity of certain ingredients, it is urgent to develop strategies to raise poultry without any inorganic phosphorus (iP). Most of the phosphorus provided by plant raw materials, in the form of phytate, is not available for monogastric animals. The efficacy of adding a phytase to feed is well documented, but studies of full replacement of iP, especially during the starter period, are rare. The objective of this study was to test a new bacterial phytase consensus 6 variant PhyG, in formulas without iP throughout the rearing period in chickens fed a plant-based diet. A total of 26,240 Ross 308 chickens, of mixed sexes, were divided into 4 treatments, with 8 replicates per treatment and 820 chicks per replicate, from 1 to 37 days of age. Treatment (T) 1 was a positive, nutritionally adequate control. In T2, energy was reduced by 75 kcal with the addition of 2000 U of xylanase. T3 and T4 were reformulated without addition of iP and reduced in calcium by 0.15%. They were supplemented with 3000 FTU/kg of this new phytase in starter, 2000 FTU/kg in grower and 1000 FTU/kg in finisher. Data were analyzed by a two-way ANOVA test. There was no interaction between phytase and xylanase for any parameter throughout the trial. Phytase maintained live weight and significantly improved feed conversion compared with the positive control at 37 days of age - 1.418 versus 1.452 *(*P<0.05*)*. Addition of phytase maintained tibia ash content at 21 and 36 days of age and significantly increased break strength at 21 days of age *(*P<0.05*)*. The feed cost of birds fed iP-free diets with phytase was reduced, particularly in the presence of xylanase. This study proves the feasibility of total replacement of iP in chicken production under field conditions.

INTRODUCTION

Le phosphate inorganique (Pi) est ajouté aux régimes alimentaires des poulets de chair pour garantir la satisfaction des besoins en phosphore. Cependant, en tant que ressource naturelle, la disponibilité du Pi est limitée. L'offre mondiale diminue d'année en année et pourrait être épuisée au cours des 100 prochaines années. Il est urgent de développer des stratégies pour élever des volailles sans ajout de Pi afin d'améliorer la durabilité de la production de poulets de chair et de réduire son impact environnemental. La majorité du phosphore contenu dans les ingrédients d'origine végétale est sous forme de phytate (Selle et Ravindran, 2007), mal hydrolysé par les monogastriques. Le remplacement total du Pi alimentaire par la phytase a rarement été étudié et constitue un défi en particulier pendant la phase de démarrage, lorsque les besoins en phosphore sont élevés. L'objectif de cette étude était de tester une nouvelle consensus 6 phytase bactérienne, variant PhyG, dans des formules ne contenant pas de Pi pendant toute la durée d'élevage, chez des poulets nourris avec des aliments à base de plantes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Protocole expérimental

Une analyse factorielle 2 x 2 avec 2 niveaux de xylanase et 2 niveaux de phytase a été utilisée. Un total de 26240 poulets Ross 308 (mâles et femelles) d'un jour a été réparti dans 32 parquets, soit 820 oiseaux par parquet et 8 parquets par traitement (densité à 37 jours : 37,7 kg/m2). Aliment et eau de boisson ont été distribués à volonté. Les régimes alimentaires étaient composés de maïs, blé, tourteaux de soja et de tournesol, avec ajout d'huile de soja et de remoulage de blé et se présentaient sous forme de miettes en démarrage et de granulés (3,0 mm) en croissance et finition. Des coques d'avoine ont été incluses pour stimuler le développement du gésier (**Tableau 1**). Le témoin positif (PC1) a été formulé en accord avec les recommandations du sélectionneur (CVB, 2018). La teneur en phytate était de 0,33 %, 0,31 % et 0,26 % et le phosphore retenu (retP) de 0,38 %, 0,30 % et 0,26 % en démarrage, croissance et finition, respectivement. Un deuxième régime (PC2) a été formulé à partir de PC1 avec ajout de 2000 U/kg d'une xylanase produite par Trichoderma reesei (Danisco Xylanase, Danisco Animal Nutrition, IFF) en réduisant l'énergie métabolisable (EM) de 75 kcal/kg. Les deux régimes expérimentaux (IPF1 et IPF2) étaient reformulés, à partir des régimes PC1 et PC2, mais sans phosphate inorganique et réduits en calcium (Ca) de 1,5 g/kg. Une consensus phytase bactérienne, variant PhyG, produite par Trichoderma reesei (Axtra PHY GOLD, Danisco Animal Nutrition, IFF) y était ajoutée à 3000, 2000 et 1000 FTU/kg en démarrage, croissance et finition respectivement. Le poids des oiseaux a été contrôlé en continu dans chaque parquet par des balances automatiques. A 37 jours d'âge, tous les oiseaux ont été pesés par parquet, déterminant le poids corporel moyen. Les parquets étaient contrôlés quotidiennement pour vérifier la mortalité et les oiseaux morts étaient retirés. La consommation d'aliments et d'eau a été enregistrée par parquet à 37 jours d'âge et utilisée pour calculer la consommation moyenne d'aliments, la consommation d'eau et le ratio eau/aliments par poulet. L'indice de consommation (IC) a été calculé, corrigé par le poids des animaux morts. À 21 et 36 jours d'âge, les os des tibias gauche et droit de 4 oiseaux mâles par parquet ont été collectés. Les tibias gauches ont été utilisés pour déterminer la résistance à la rupture du tibia. Les tibias droits ont été regroupés par parquet et analysés pour déterminer leur teneur en cendres.

1.2. Analyse statistique

Les données ont été analysées par ANOVA à deux facteurs (plan factoriel 2 x 2 avec deux niveaux de phytase et deux niveaux de xylanase). Le bloc a été inclus comme effet aléatoire. Les données ont été analysées à l'aide de la plateforme Fit Model de JMP 15 (JMP, 2020 ; SAS Institute Inc., Cary, NC). Les différences ont été considérées comme significatives à $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les nutriments analysés étaient proches des valeurs formulées, à l'exception du Ca plus élevé que prévu dans les régimes PC1 et IPF2 en finition. Les recouvrements en phytase exogène ont confirmé que les niveaux cibles par phase avaient été atteints à +/- 20%. Les activités xylanase dans les traitements PC2 et IPF2 étaient plus variables, variant de 770 à 2 102 U/kg. Il n'y avait pas d'interaction entre phytase et xylanase pour aucun paramètre pendant toute la durée de l'essai. La phytase a maintenu le poids vif et amélioré significativement l'IC par rapport aux témoins à 37 jours d'âge) – 1,418 contre 1,452 ($P<0,05$). La mortalité globale n'a pas été affectée par la phytase ou la xylanase (**Tableau 2**). L'ajout de phytase a maintenu la teneur en cendres du tibia à 21 et 36 jours d'âge et augmenté la force à la rupture à 21 jours d'âge (**Tableau 3**). Les caractéristiques biochimiques et enzymatiques de la phytase évaluée dans cette étude ont été décrites précédemment (Christensen et al., 2020) et son efficacité à effectuer l'hydrolyse rapide et extensive du phytate dans les aliments pour poulets de chair conduisant à une amélioration des performances de croissance, de la digestibilité du P et de la minéralisation osseuse a également été démontrée (Dersjant-Li et al., 2020a). Des études antérieures ont évalué l'efficacité de la phytase dans des régimes pour poulets de chair contenant des niveaux réduits de Pi en phases de croissance et de finition uniquement (Scholey et al.,

2018, Ribeiro et al. 2019). À la connaissance des auteurs, les essais rapportés par Marchal et al. (2021) et Dersjant-Li (2021) représentent les deux seules publications à ce jour qui ont évalué l'effet de l'absence totale de Pi à partir de 1 jour d'âge. L'une des principales différences dans la présente étude est le cadre de production commercial appliqué, dans lequel une densité élevée (820 oiseaux/par parquet, soit 37,7 kg/m² à 37 jours d'âge) a été utilisée. Cela devait générer des conditions plus représentatives des pratiques de production commerciale qu'il n'est pas possible de reproduire dans un cadre de recherche. La supplémentation en PhyG dans les régimes sans Pi, avec ou sans xylanase, et réduits en EM et Ca, a maintenu ou amélioré les performances de croissance et l'utilisation de l'aliment (Gain de poids et IC) sur un cycle de croissance complet (1 à 37 jours d'âge). La minéralisation osseuse significativement ($P<0,05$) accrue (+6,6 % de force à la rupture à 21 jours d'âge dans les traitements IPF avec phytase, par rapport aux régimes PC), suggère que les besoins en P ont été satisfaits. D'autre part, la phytase a significativement ($P<0,05$) amélioré l'IC de 0,034 g/g sur la période globale, sans amélioration de la teneur en cendres des os ou de leur résistance, ce qui peut être interprété comme un effet " extra-phosphorique " (Selle et al., 2000 ; Ravindran et al., 2006) qui a pu résulter d'une amélioration de la digestibilité de l'énergie ou des acides aminés dans les traitements supplémentés en phytase. L'effet plus important observé par Marchal et al. (2021) reflète probablement les différents contextes des deux études (recherche à petite échelle vs production commerciale) et la durée différente des deux études (1à 42 jours d'âge vs 1 à 37 jours d'âge). La suppression totale du Pi de la formulation du régime alimentaire est intéressante pour les producteurs pour des raisons de durabilité. D'autre part, sur la base des prix du marché (mai-juin 2020), il a été estimé que les régimes IPF1 et IPF2 pourraient réduire les coûts de l'alimentation de 0,005 €/kg de poids corporel (-1,4 %) et 0,012 €/kg de poids corporel (-3,35 %) par rapport aux régimes PC respectifs, sur un cycle de croissance complet de 1 à 37 jours d'âge **(tableau 2).**

CONCLUSION

Dans un contexte de production commerciale, la phytase PhyG administrée seule ou en combinaison avec la xylanase, a maintenu ou amélioré les performances de croissance, la minéralisation osseuse et la résistance à la rupture chez des poulets de chair nourris avec des régimes ne contenant pas de Pi ajouté tout au long du cycle de croissance (1 à 37 jours d'âge). Ces résultats ont été obtenus en utilisant une stratégie de dosage progressif de la phytase (3000 FTU/kg en phase de démarrage, 2000 FTU/kg en phase de croissance et 1000 FTU/kg en phase de finition) avec une réduction progressive de la teneur en phytate de l'alimentation. Les calculs des coûts d'alimentation ont indiqué que la phytase seule ou surtout en combinaison avec la xylanase, pouvait réduire les coûts totaux d'alimentation par kg de poids corporel brut.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Christensen T., Dersjant-Li Y., Sewalt V., Mejldal R., Haaning S., Pricelius S., Nikolaev I., Sorg R. and de Kreij A., 2020. Curr. Eng. J., (6), 156–171

Dersjant-Li Y., Archer G., Stiewert A. M., Brown A. A., Sobotik E. B., Jasek A., Marchal L., Bello A., Sort R. A., Christensen T., Kim H.-S., Mejldal R., Nikolaev I., Pricelius S., Haaning S., Søresnsen J. F., de Kreij, and Sewalt V., 2020. Anim. Feed Sci. Technol., (264), 114481

Dersjant-Li Y., Bello A., Esteve-Garcia E., Ramirez Crues C. and Marchal L., 2021. Br. Poult. Sci.

Marchal L., Bello A., Sobotik E. B., Archer G. and Dersjant-Li Y., 2021. Poult. Sci., (3), 100962

Ravindran V., Morel P.C.H., Partridge G.G., Hruby M., Sands J.S., 2006. Poult. Sci., (85), 82–89.

Ribeiro T. P., Dal Pont G. C., Dahlke F., da Rocha C., Sorbara J. O. B. and Maiorka A., 2019. J. Appl. Poult. Res., (28), 263–270

Scholey D. V., Morgan N. K., Riemensperger A., Hardy R. and Burton E. J., 2018. Poult. Sci., (97), 2435–2440

Selle P.H., Ravindran V., Caldwell R.A., Bryden W.L., 2000. Nutr. Res. Rev. 13, 255–278.

Selle P. H. and Ravindran V., 2007. Anim. Feed Sci. Technol., (135), 1-41

Sewalt V., 2020. Anim. Feed Sci. Technol., (264), 114481

Tableau 1. Composition (%, en brut) et valeurs nutritionnelles calculées (%) des aliments expérimentaux

	Démarrage (1-10 jours)				Croissance (10-22 jours)				Finition (22-37 jours)			
Matières premières, %	**PC1**	**PC2**	**IPF1**	**IPF2**	**PC1**	**PC2**	**IPF1**	**IPF2**	**PC1**	**PC2**	**IPF1**	**IPF2**
Blé	20,00	20,00	20,00	20,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Maïs	30,77	30,77	30,77	30,77	30,33	30,33	30,33	30,33	39,85	39,85	39,85	39,85
Tourteau de soja	24,58	24,58	24,58	24,58	22,65	22,65	22,65	22,65	21,98	21,98	21,98	21,98
Tourteau de tournesol	11,49	11,49	11,49	11,49	9,03	9,03	9,03	9,03	4,19	4,19	4,19	4,19
Remoulages de blé	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	1,00	1,00	1,00	1,00
Coques d'avoine	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sel	0,32	0,32	0,32	0,32	0,29	0,29	0,29	0,29	0,22	0,22	0,22	0,22
L-Lysine HCl	0,38	0,38	0,38	0,38	0,36	0,36	0,36	0,36	0,31	0,31	0,31	0,31
L/DL-méthionine	0,28	0,28	0,28	0,28	0,25	0,25	0,25	0,25	0,23	0,23	0,23	0,23
L-thréonine	0,13	0,13	0,13	0,13	0,12	0,12	0,12	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10
L-valine	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Huile de palme	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,19	0,19	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00
NaHCO3	0,09	0,09	0,09	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,21	0,21	0,21	0,21
Prémix vita-mines/minéraux	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,40	0,40	0,40	0,40
Prémix Sacox*	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58
Coques de soja	**0,02**	**0,92**	**1,06**	**1,96**	**0,02**	**0,92**	**0,86**	**1,76**	**0,02**	**0,92**	**0,79**	**1,69**
Huile de soja	**4,38**	**3,48**	**4,38**	**3,48**	**4,49**	**3,59**	**4,49**	**3,59**	**3,52**	**2,62**	**3,52**	**2,62**
Carbonate de Ca	**1,22**	**1,22**	**1,36**	**1,36**	**1,21**	**1,21**	**1,18**	**1,18**	**1,14**	**1,14**	**1,05**	**1,05**
MCP	**1,18**	**1,18**	**0,00**	**0,00**	**0,81**	**0,81**	**0,00**	**0,00**	**0,68**	**0,68**	**0,00**	**0,00**
Valeurs nutritionnelles, % (sauf énergie et P phytique)												
ME, kcal/kg	2800	2725	2800	2725	2875	2800	2875	2800	2950	2875	2950	2875
Protéine brute	21,95	21,95	21,95	21,95	20,62	20,62	20,62	20,62	18,72	18,72	18,72	18,72
Matière grasse brute	7,15	6,26	7,15	6,26	7,42	6,53	7,42	6,53	6,37	5,47	6,37	5,47
Cellulose brute	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	2,80	2,80	2,80	2,80
Calcium	0,80	0,80	0,65	0,65	0,72	0,72	0,57	0,57	0,65	0,65	0,50	0,50
Phosphore (P)	0,72	0,72	0,45	0,45	0,61	0,61	0,42	0,42	0,52	0,52	0,36	0,36
P retenu	0,38	0,38	0,15	0,15	0,30	0,30	0,14	0,14	0,26	0,26	0,13	0,13
P phytique, g/kg	0,33	0,33	0,33	0,33	0,31	0,31	0,31	0,31	0,26	0,26	0,26	0,26
Lysine dig.	1,18	1,18	1,18	1,18	1,10	1,10	1,10	1,10	1,00	1,00	1,00	1,00
Met + Cys dig.	0,87	0,87	0,87	0,87	0,80	0,80	0,80	0,80	0,73	0,73	0,73	0,73
Thr dig.	0,77	0,77	0,77	0,77	0,72	0,72	0,72	0,72	0,65	0,65	0,65	0,65
Trp dig.	0,23	0,23	0,23	0,23	0,21	0,21	0,21	0,21	0,19	0,19	0,19	0,19
Val dig.	0,94	0,94	0,95	0,95	0,88	0,88	0,88	0,88	0,80	0,80	0,80	0,80

*Le prémix Sacox contenait 12 000 mg de salinomycine sodium (Huvepharma NV), apportant 70 ppm dans l'aliment au taux d'inclusion appliqué.

Tableau 2. Effet du remplacement total du phosphate inorganique par la phytase sur les performances de poulets nourris avec des aliments avec et sans xylanase ; analyse factorielle[*] 2x2 – période de 1 à 37 jours d'âge

1 à 37 jours d'âge			Gain de poids	Consommation d'aliment	Indice de consommation	Consommation d'eau	Mortalité	Coût d'aliment €/kg gain de poids[**]
	Phytase	**Xylanase**	g/oiseau	g/oiseau	g/g	ml/oiseau	%	
Moyennes par traitement								
PC1	Non	Non	2,256	3,259	1,445	6,255	4,722	0,361
PC2	Non	Oui	2,265	3,305	1,459	6,361	5,057	0,357
IPF1	Oui	Non	2,256	3,211	1,423	6,031	5,331	0,356
IPF2	Oui	Oui	2,245	3,167	1,413	6,122	4,891	0,345
SEM[***] cumulée			20,73	30,82	0,011	89,82	0,42	0,003
Moyennes effet principal								
Phytase	Non (PC)		2,260	3,282[a]	1,452[a]	6,308[a]	4,889	0,359[a]
	Oui (IPF)		2,249	3,189[b]	1,418[b]	6,077[b]	5,111	0,351[b]
Xylanase		Non	2,256	3,235	1,434	6,143	5,026	0,359[a]
		Oui	2,254	3,236	1,436	6,242	4,974	0,351[b]
SEM*** cumulée			14.66	21,80	0,01	63.51	0,30	0,002
P - phytase			0,605	**0,006**	**0,005**	**0,016**	0,516	**0,004**
P - xylanase			0,918	0,983	0,874	0,281	0,256	**0,007**
P - phytase x xylanase			0,587	0,155	0,277	0,935	0,320	0,211

[*]Analyse factorielle 2 x 2 avec deux niveaux de phytase et deux niveaux de xylanase
[**] Calculs effectués à partir des prix de matières premières de Juin 2020 en Hollande, incluant le coût des enzymes.
[***] SEM : erreur standard de la moyenne
[a,b] Différence significative à P<0,05

Tableau 3. Effet du remplacement total du phosphate inorganique par la phytase sur la teneur en cendres (% MS) et la force de rupture du tibia (MPa) - aliments avec et sans xylanase ; analyse factorielle[*] 2x2

			Cendres des tibias		Force à la rupture	
	Phytase	**Xylanase**	**21 j d'âge**	**36 j d'âge**	**21 j d'âge**	**36 j d'âge**
Moyennes par traitement						
PC1	Non	Non	50,1	52,1	47,4	45,4
PC2	Non	Oui	49,8	52,2	47,2	48,2
IPF1	Oui	Non	49,6	52,1	51,2	45,9
IPF2	Oui	Oui	50,1	51,4	49,6	46,6
SEM[**] cumulée			0,37	0,37	1,2	0,16
Moyennes effet principal						
Phytase	Non (PC)		49,9	52,1	47,3[a]	46,8
	Oui (IPF)		49,8	51,8	50,4[b]	46,2
Xylanase		Non	49,8	52,1	49,3	45,6
		Oui	49,9	51,8	48,4	47,4
SEM[**] cumulée			0,26	0,19	0,81	0,82
P - phytase			0,77	0,12	**0,011**	0,624
P - xylanase			0,75	0,32	0,447	0,139
P - phytase x xylanase			0,28	0,16	0,546	0,376

[*]Analyse factorielle 2 x 2 avec deux niveaux de phytase et deux niveaux de xylanase
[**] SEM : erreur standard de la moyenne
[a,b] Différence significative à P<0,05

UNE CONSENSUS PHYTASE BACTÉRIENNE VARIANT PHYG MAINTIENT LES PERFORMANCES DE POULETS NOURRIS SANS PHOSPHORE INORGANIQUE

Debicki-Garnier Anne Marie (1), Bello Abiodun (1), Dersjant-Li Yueming (1), Van Eerden Ellen (2), Kwakernaak Cees (2), Marchal Leon (1) et Messager Bertrand (3)
(1) Danisco Animal Nutrition & Health / IFF, (2) Schothorst Feed Research BV, (3) Altilis Nutrition Animale

Dans un contexte de durabilité des productions animales et de raréfaction de certains ingrédients, il est urgent de développer des stratégies pour élever des volailles sans ajout de phosphore inorganique (Pi). L'objectif de cette étude était de tester une nouvelle consensus 6 phytase bactérienne, variant PhyG, dans des formules sans Pi, pendant toute la durée d'élevage, chez des poulets nourris avec des aliments à base de plantes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animaux et mesures

- 26240 poulets Ross 308 de sexes mélangés
- 4 traitements, 8 répétitions, de 1 à 37 jours d'âge
- Analyse factorielle 2 x 2 avec 2 niveaux de xylanase et 2 niveaux de phytase

Aliments expérimentaux

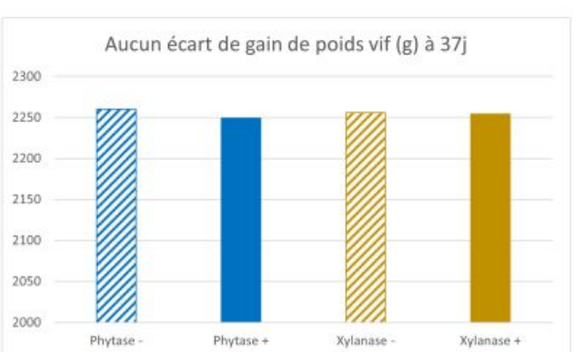
PC1 est le témoin positif, dans PC2 valorisation de la xylanase de 75 kcal/kg d'EM.
IPF1et IPF2 sont reformulés sans ajout de phosphore inorganique (Pi) et réduits en calcium de 0,15%.

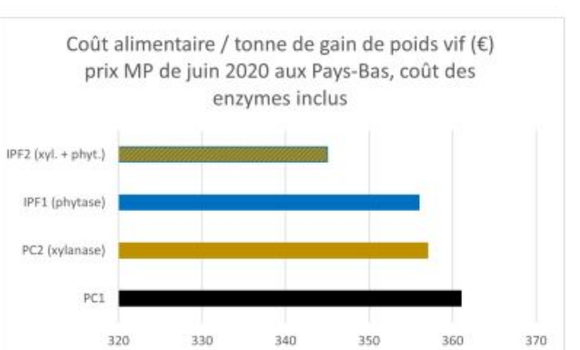
	DÉMARRAGE				CROISSANCE				FINITION			
	PC1	PC2	IPF1	IPF2	PC1	PC2	IPF1	IPF2	PC1	PC2	IPF1	IPF2
MCP, %	1,18	1,18	0,00	0,00	0,81	0,81	0,00	0,00	0,68	0,68	0,00	0,00
EM, kcal/kg	2800	2725	2800	2725	2875	2800	2875	2800	2950	2875	2950	2875
Calcium, %	0,80	0,80	0,65	0,65	0,72	0,72	0,57	0,57	0,65	0,65	0,50	0,50
Phosphore, %	0,72	0,72	0,45	0,45	0,61	0,61	0,42	0,42	0,52	0,52	0,36	0,36
Phytase, FTU/kg	-	-	3000	3000	-	-	2000	2000	-	-	1000	1000
Xylanase, U/kg	-	2000	-	2000	-	2000	-	2000	-	2000	-	2000

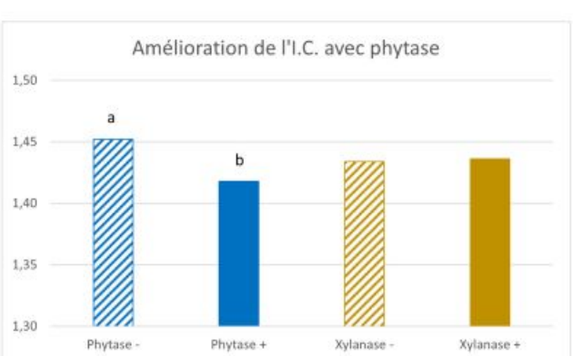
RÉSULTATS SUR LA PÉRIODE 1 À 37 JOURS D'ÂGE

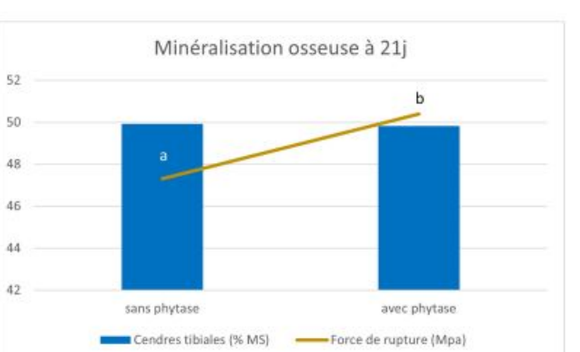
Analyse factorielle 2x2 avec 2 niveaux de phytase et 2 niveaux de xylanase

- La phytase a maintenu le poids vif et amélioré (P<0,05) l'indice de consommation par rapport au témoin positif à 37 jours d'âge.
- L'ajout de phytase a augmenté (P<0,05) la force à la rupture à 21 jours d'âge.
- Le coût alimentaire des oiseaux nourris sans Pi avec PhyG a été réduit, particulièrement en présence de xylanase.









a,b Différence significative à P<0,05

CONCLUSION

Cet essai prouve la faisabilité du remplacement total du phosphore inorganique en production de poulet dans des conditions de terrain.

DES REGIMES ALIMENTAIRES ADAPTES AU CONFINEMENT DES CANARDS : DES FIBRES POUR OPTIMISER L'ENERGIE ET LES PROTEINES

M. Bijja, F. Lavigne, J. Arroyo

[a]*ASSELDOR, La Tour de Glane, 24420 Coulaures, France*
m.bijja@gmail.com

RÉSUMÉ

En alerte de grippe aviaire, dans le cadre d'élevage en confinement, la limitation de l'activité des animaux nécessite d'adapter la composition des aliments dans un but d'atteindre un poids de 4,2kg à la mise en engraissement, de ne pas dégrader l'ambiance dans les bâtiments, de limiter les dépôts adipeux en maintenant une bonne préparation à l'engraissement. L'objectif de l'essai était de tester la dilution de l'énergie et des protéines ainsi que l'incorporation de matières premières riches en fibres pour combiner les objectifs de croissance, tout en développant la capacité d'ingestion des animaux en confinement total. 480 canetons mâles d'un jour ont été répartis en 12 loges de 40 animaux selon la conduite alimentaire suivante : Aliment «Démarrage» jusqu'à 21j pour tous les animaux, puis aliments expérimentaux «Croissance-finition» jusqu'à la mise en engraissement à 11 semaines, avec rationnement horaire de la semaine 8 à 11. Quatre compositions alimentaires sont testées avec 3 répétitions chacune. Aliment-1 granulé classique, utilisé hors claustration à 15% de protéines, 3000 kcal/kg. Aliment-2 granulé complet sans luzerne à 13,5% de protéines, 2800 kcal/kg. Aliment-3 granulé complet à 12% de bouchons de luzerne pour 13,5% de protéines, 2800 kcal/kg. Aliment-4 mélange de 30% de maïs grain + granulés contenant 12% de bouchons de luzerne pour 13,5% de protéines, 2800 kcal/kg. En élevage "Croissance-finition", les aliments 1 et 2 présentent les meilleurs poids vifs avec respectivement 4398 g et 4400 g par rapport aux aliments 3 et 4 avec 4254 g et 4118 g. Les indices de consommation montrent une meilleure valorisation des aliments 1, 2 et 3 avec respectivement 3,08, 3,12 et 3,17 comparé à l'aliment 4 avec 3,32. Les compositions corporelles ne sont pas différentes. Les poids vifs en fin d'engraissement sont supérieurs pour des canards issus des modalités alimentation 1 et 2 avec respectivement 6442 kg et 6452 kg par rapport aux animaux ayant reçu les régimes 3 et 4. En poids de foie, les canards élevés avec les aliments 1 et 2 présentent les meilleurs résultats avec respectivement 672 g et 694 g par rapport à ceux ayant reçu les aliments 3 et 4 avec respectivement 660 g et 661 g. Ces premiers résultats montrent qu'il est possible d'élever des canards en confinement en diminuant l'énergie et le taux de protéine à 2800 kcal/kg et 13,5 % en maintenant les performances zootechniques en élevage sans trop pénaliser les performances en engraissement.

ABSTRACT

Diets adapted to the containment of ducks : Fibers for optimizing energy and proteins.

During an avian influenza alert, in the context of confined rearing, the limitation of animal activity requires the composition of feed to be adapted with the aim of achieving a weight of 4.2 kg at the time of force-feeding, not to degrade the atmosphere in the buildings, and to limit fat deposits while maintaining a good preparation for fattening. The objective of the trial was to test the dilution of energy and protein and the incorporation of fibre-rich raw materials to combine growth objectives, while developing the ingestion capacity of animals in total confinement. 480 day-old male ducklings were divided into 12 boxes of 40 birds each with the following feeding regime Start-up feed for all ducklings up to 21 days, followed by experimental growth-finish feed until fattening at 11 weeks, with hourly rationing from week 8 to 11. Four feed compositions were tested with 3 replicates each. Feed-1 classic pellet, used outside confinement at 15% protein, 3000 kcal/kg. Feed-2 complete pellet without alfalfa at 13.5% protein, 2800 kcal/kg. Feed-3 complete pellet with 12% alfalfa cap for 13.5% protein, 2800 kcal/kg. Feed-4 Mixture of 30% grain maize + pellets with 12% alfalfa cap for 13.5% protein, 2800 kcal/kg. In breeding "Growth-Finish", Feed 1 and 2 have the best live weight with 4398 g and 4400 g respectively compared to Feed 3 and 4 with 4254 g and 4118 g. The feed conversion rates show a better valuation of feed 1 and 2 with 3.08 and 3.12 followed by feed 3 with 3.17. The body compositions were not different. The live weights at the end of force-feeding were higher for ducks from feed 1 and 2 with respectively 6442 kg and 6452 kg compared to ducks from feed 3 and 4. In terms of liver weight, ducks reared on feed 1 and 2 showed the best results with 672 g and 694 g respectively compared to those reared on feed 3 and 4 which had 660 g and 661 g respectively. These initial results show that it is possible to raise ducks in confinement by reducing the energy and protein content to 2800 kcal/kg and 13.5%, while maintaining zootechnical performance on the farm without compromising performance in force-feeding.

INTRODUCTION

Aujourd'hui, les aliments adaptés au canard prêt-à-gaver sont formulés pour nourrir des animaux ayant accès à l'extérieur. Cependant avec plus de 80 élevages foyers hautement pathogènes en 2015-2016 et plus de 480 en 2016-2017 (Source Ministère de l'Agriculture), la filière, fortement touchée, traverse une crise sanitaire majeure qui conduit à une remise en cause de son système de production et de son organisation. Le système de demain devra ainsi impérativement le prendre en compte et gérer ce risque. La possibilité de confinement des animaux en cas d'alerte, constitue ainsi un des prérequis aux systèmes qui pourront être développés (Arrêtés du 24/01/2008, du 08/02/2016 et du 15/07/2016). Ces nouveaux systèmes conditionneront la possibilité même de produire. Aussi, les évolutions des systèmes d'élevage déjà en cours ces dernières années s'accélèrent fortement aujourd'hui.

En cas d'alerte, dans le cadre d'élevage en confinement (à l'intérieur), la limitation de l'activité des animaux nécessite d'adapter la composition des aliments dans un but d'atteindre un poids de 4,2kg à la mise en engraissement, de ne pas dégrader l'ambiance dans les bâtiments (litières trop humides notamment), de limiter les dépôts de gras adipeux en tout maintenant une bonne préparation à l'engraissement. La dilution de l'énergie et des protéines ainsi que l'incorporation de matières premières riches en fibres pourraient être une bonne solution pour combiner les objectifs de croissance, de limitation de dépôts de gras adipeux tout en développant la capacité d'ingestion des animaux. En effet, les récents travaux sur l'incorporation dans l'alimentation finition de pulpe de betterave chez l'oie (Arroyo et al, 2015, 2017a) et dernièrement de bouchon de luzerne déshydratée, chez les canards (Arroyo et al, 2017b) montrent que ces matières premières ne pénalisent pas les animaux pendant les phases de finition et d'engraissement. L'étude a été menée dans le cadre d'une conduite en élevage en confinement total avec une ventilation dynamique. Les données ont été analysées à l'aide de la version 22 du logiciel SPSS Statistics IBM®. Le parquet a été utilisé comme unité statistique pour la consommation d'aliment au cours de la période. Les données individuelles ont été considérées comme unité statistique pour l'étude du PV, du gain moyen quotidien et des caractéristiques anatomiques pendant la période ainsi que pour les performances au cours de l'engraissement. Les données ont été traitées par une analyse de variance ANOVA. Lorsque cela était significatif, les moyennes ont été comparées en utilisant un test de Bonferonni. Les différences ont été traitées comme significatives pour $P < 0,05$. La mortalité été analysée en utilisant un test de Chi^2.

1. MATERIELS ET METHODES

L'essai s'est déroulée à ASSELDOR la Ferme Expérimentale de l'Oie et du Canard (Coulaures, Dordogne ; autorisation pour l'expérimentation A24-137-1).

- Dispositif expérimental

L'essai zootechnique a été réalisé sur 480 canetons mulards (souche PKL x MMG), répartis en 12 lots de 40 animaux, élevés selon une conduite alimentaire triphasée :
- Aliment « starter » de 0 à 10 jours (titrant 22,6% de MAT à 2850 kcal) ad-libitum.
- Aliment « démarrage » de 11 jours à 21 jours (titrant 17% de MAT à 2800 kcal/kg) ad-libitum.
- Aliments expérimentaux « croissance-finition » de 22 jours à 77 jours ad-libitum jusqu'à 56 jours.

Un rationnement horaire de 56 j à 77 jours sera réalisé avant mise en engraissement à 77 jours. L'accès à la mangeoire se fait le matin de 9h à 10h.

- Modalités testées en élevage

4 compositions alimentaires ont été testées avec des variations de taux protéiques, énergétiques et des matières premières. Ces aliments sont des aliments « croissance-finition » distribués à partir de 22 jours d'âge.
- Aliment 1 (3 répétitions) : Granulé classique, utilisé hors claustration, pour une composition totale titrant 15% de protéines et 3000 kcal/kg d'énergie.
- Aliment 2 (3 répétitions) : granulé complet sans luzerne pour une composition totale titrant 13,5% de protéines et 2800 kcal/kg d'énergie.
- Aliment 3 (3 répétitions) : granulé complet à 12% de bouchons de luzerne pour 13,5% de protéines et 2800 kcal/kg d'énergie.
- Aliment 4 (3 répétitions) : mélange de 30% de maïs grain + granulés contenant 12% de bouchons de luzerne pour 13,5% de protéines et 2800 kcal/kg d'énergie.

- Mesures

→ Elevage

- Pesée individuelle à 1j, 21j, 56j, et 77j
- Consommation d'aliment hebdomadaire par parquet
- Dissection anatomique complète de 12 canards/lot à 77 j
- Mesure de l'état corporel à 84j (pattes, emplumement, salissure) à l'aide de la grille BEC (Bien Etre du Canard) de l'ITAVI.

→ Engraissement

- Poids à la mise en engraissement et à l'abattage
- Courbe d'engraissement identique entre modalité de d'engraissement
- Consommations individuelles (repas non distribués)

- Performances en foie (poids, classement)
- Poids des magrets sur 12 canards/modalité avec séparation muscle/peau

- Modalité en phase d'engraissement

L'engraissement a été réalisé par distribution d'une pâtée composée de 98% de maïs (dont 70% sous forme de farine et 30% sous forme de grain) et 2% d'un additif alimentaire pour l'engraissement. Le premier repas distribué était de 250 g /canard avec pour objectif 22 repas selon le cahier des charges IGP Sud-ouest.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

A trois semaines, les canards présentaient pour toutes les modalités testées des poids vifs similaires avec une moyenne autour de 945 g (Tableau 1). Des différences de croissance apparaissent à partir de 7 semaines et jusqu'à 11 semaines. Les modalités utilisant l'aliment 1 et 2 présentent les meilleures réponses de croissance avec respectivement 4398 g et 4400 g par rapport aux aliments 3 et 4 qui présentent des canards avec respectivement 4254 g et 4118 g. L'utilisation des aliments 1 et 2 à 3000 et 2800 kcal/kg d'énergie respectivement génèrent les meilleures croissances par rapport aux aliments à 2800 kcal/kg d'énergie composés de bouchons de luzerne ou de bouchons de luzerne avec maïs. Les indices de consommation montrent une meilleure valorisation des aliments 1, 2 et 3 avec respectivement 3,08, 3,12 et 3,17 comparé à l'aliment 4 avec 3,32. Ces observations confirment la capacité du canard mulard à réguler son ingéré sur l'énergie en période de rationnement.
La composition corporelle entre les différents régimes alimentaires testés ne présente pas de différence significative sur la période d'élevage. La seule différence significative se voit sur le pourcentage de la masse de foie sur le poids vif qui est à l'avantage des aliments 2 et 4 avec respectivement 1,22 % et 1,23 %, comparé à l'aliment 1 avec 1,10% ($P<0,05$) l'aliment 3 présentant une valeur intermédiaire avec 1,19 %. Les poids vifs des canards en fin de d'engraissement présentent des différences significatives pour les des canards issus en élevage des modalités alimentation 1 et 2 avec respectivement 6442 kg et 6452 kg par rapport aux animaux ayant reçu les aliments 3 et 4 (Tableau 2). Les canards des modalités aliment 1 et 2 en élevage ont maintenu le différentiel de poids lors de la mise en d'engraissement à 11 semaines jusqu'à l'abattage, comparé aux autres canards qui n'ont donc pas compensé cet écart à l'issue d'engraissement. Sur les poids de foie, les canards ayant reçu l'aliments 2 présente les meilleures performances suivi de l'aliment 1 qui est intermédiaire avec respectivement 694 g et 672 g par rapport aux canards du traitement aliment 3 et 4 qui ont respectivement 660 g et 661 g. Sur le classement des foies selon la grille commerciale, aucune différence significative n'est visible. Concernant les poids des magrets, les canards issus de la modalité aliment 1 présentent des poids supérieurs avec 443 g suivis des modalités aliment 3 et 4 qui sont intermédiaire avec 432 g et 431 g.

CONCLUSION

Ces premiers résultats montrent qu'il est possible d'élever des canards mulards en total confinement avec des aliments adaptés. La diminution de l'énergie et du taux de MAT à 2800 kcal/kg et 13,5 % permettent le maintien des performances zootechniques en élevage sans trop pénaliser les performances en phase d'engraissement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Arroyo J., Brachet M., Dubois J.P., Lavigne F., Molette C., Bannelier C., Fortun-Lamothe L. (2015) Effect of incorporating sugar beet pulp in the finisher diet on performance of geese. Animal. 9 (4): 553-560.

Arroyo J., Lavigne F., Bannelier C., Fortun-Lamothe L. (2017a) Influence of the incorporation mode of sugar beet pulp in the finishing diet on the digestive tract and performances of geese reared for foie gras production. Poultry Science 96 (11): 3928–3937.

Arroyo J., Lavigne F., Bannelier C., Fortun-Lamothe L. (2017b) Impact de l'utilisation d'aliment à forte capacité de gonflement en phase de finition sur la préparation du jabot des canards prêts-à-gaver – 7 pages – Rapport d'étude CIFOG – Journée Palmipole 2017 – 30/06/2017 à Benquet (40).

	Aliment 1	Aliment 2	Aliment 3	Aliment 4	*P-value*
Poids vif (g)					
3 Sem	944 ± 79	946 ± 75	948 ± 72	949 ± 75	NS
7 Sem	3409 ± 221 a	3387 ± 273 ab	3226 ± 257 c	3333 ± 252 b	***
11 Sem	4398 ± 312 a	4400 ± 4254 a	4254 ± 342 b	4118 ± 325 c	***
IC					
7 Sem	1,99 a	2,06 b	2,11 b	2,23 c	***
11 Sem	3,08 a	3,12 a	3,17 a	3,32 b	***
Dissection à 11 Sem					
Foie/PV (%)	1,10 b	1,23 a	1,19 ab	1,22 a	*
Gras abdominal/ PV (%)	1,64	1,5	1,56	1,55	NS
Muscle filet / PV (%)	13,61	13,65	13,65	14,1	NS
Peau magret/Muscle filet (%)	27,14	26,81	26,25	26,31	NS

Tableau 1 : Performances en élevage et composition corporelle

Tableau 2. Performances en gavage

	Aliment 1	Aliment 2	Aliment 3	Aliment 4	*P-value*
Poids vifs (g)	6442 ± 359 a	6452 ± 344 a	6300 ± 355 b	6172 ± 341 c	***
Poids de foie (g)	672 ± 110 ab	694 ± 82 a	660 ± 82 b	661 ± 88 b	*
Poids muscle Pectoral (g)	315 ± 23 a	294 ± 21 b	305 ± 25 ab	308 ± 25 a	**
Poids peau Magret (g)	128 ± 15	127 ± 17	127 ± 17	123 ± 137	NS
Poids magret paré (g)	443 ± 32 a	421 ± 27 b	432 ± 37 ab	431 ± 30 ab	**
Classement Foie Gras Coop (%)					
Extra	86	90	87	93	
Première	10	8	13	5	NS
TV*	4	2	0	2	

* Tout venant

EFFET D'UNE FORTE RÉDUCTION DE CALCIUM ET DE PHOSPHORE DANS L'ALIMENT DES POULETS SUR LEURS PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES.

Marecaille Clémence[1], Roulleau Xavier[1], Alleno Christophe[2]

[1]DIETAXION - 283 rue Ampère, ZA de la Noë Bachelon - 44430 LE LOROUX BOTTEREAU, [2]ZOOTESTS, Parc Technologique du Zoopôle, 5 rue Gabriel Calloet-Kerbrat, 22440 PLOUFRAGAN

c.marecaille@dietaxion.com

RÉSUMÉ

En nutrition animale, le phosphore est un nutriment minéral cher avec des réserves mondiales limitées. Il a également un impact environnemental négatif lorsqu'il est excrété en excès. Le calcium peut lui réduire la digestibilité du phosphore lorsqu'il est en trop grande quantité dans un régime. L'effet de 3 niveaux de forte réduction du calcium total (Ca tot) et du phosphore digestible (P dig) dans l'aliment des poulets de chair ne contenant pas de phytase a été étudié. Les niveaux de calcium total allaient de 0,90 à 0,70% dans l'aliment démarrage ; de 0,75 à 0,60% dans l'aliment croissance ; de 0,60 à 0,50% dans l'aliment finition. Les niveaux de phosphore digestible allaient de 0,45% à 0,315% dans l'aliment démarrage ; de 0,38 à 0,266% dans l'aliment croissance ; de 0,30 à 0,20% dans l'aliment finition. Le pidolate de calcium (PIDOLin PCa®), reconnu comme ingrédient favorisant l'absorption du calcium et du phosphore, a été ajouté, à la même dose (300g/T), en sécurisation dans chacun des traitements étudiés. 680 poulets mâles Ross 308 ont été répartis en quatre lots : Contrôle (C), C-10%, C-20%, C-30%. Les paramètres étudiés étaient la consommation alimentaire et la croissance des poulets de chair, l'indice de consommation, le taux de mortalité, l'Indice Européen de Performance (EPI), ainsi que la qualité d'os et de la litière à 35 jours. Jusqu'à -20% de réduction de P dig et Ca tot par rapport aux niveaux de l'aliment contrôle (C-20%), il n'y a pas eu de dégradation de la croissance, de la consommation, de l'indice de consommation, de la mortalité ou de la qualité osseuse. Bien que non significative, il y a numériquement une amélioration de la qualité de litière à 35 jours avec la réduction de calcium dans l'aliment (de 2,7/5 pour le lot C, et 2,5/5 pour les autres traitements). L'EPI est meilleur pour une réduction de -20% (C-20%). Cette étude montre qu'en présence de pidolate de calcium, la réduction des niveaux de P dig et Ca tot jusqu'à -20% par rapport aux niveaux du lot contrôle n'a pas d'impact négatif sur les performances de croissance des poulets de chair.

ABSTRACT

Effect of a strong reduction of calcium and phosphorus in broilers diets on their zootechnical performances.

In animal nutrition, phosphorus is an expensive mineral nutrient with limited global reserves. It also has a negative environmental impact when excreted in excess. Calcium is known as negatively impacting the digestibility of phosphorus when in too high amount in a diet. We studied the effect of 3 levels of strong reduction of total calcium (Ca tot) and digestible phosphorus (P dig) in the feeds of broilers without incorporation of phytase. The levels of total Ca were from 0.90 to 0.70% in starter feeds, from 0.75 to 0.60% in grower feeds, from 0.60 to 0.50% in finisher feeds. The levels of P dig were from 0.45% to 0.315% in starter feeds, from 0.38 to 0.266% in grower feeds, from 0.30 to 0.20% in finisher feeds. Calcium pidolate (PIDOLin PCa®) is known as an ingredient promoting the absorption of calcium and phosphorus. That is why it has been added in all treatments, at the same dose (300g/T), to secure the diet in this context of reduction of these two minerals. 680 Ross 308 male broilers were divided into four groups: Control (C), C-10%, C-20%, C-30%. The parameters studied were feed consumption, broilers' growth, feed conversion ratio (FCR), mortality, European Production Index (EPI), bone quality and litter quality at 35 days. Up to -20% reduction in P dig and Ca tot compared to the levels of the control diet (C-20%), there was no degradation of the broilers' growth, consumption, FCR, mortality or bone quality. Although not significant, there was a numerical improvement on the litter quality at 35 days with the reduction of calcium in the feed (2.7/5 for batch C, and 2.5/5 for the other treatments). EPI was better with a reduction by 20% (C-20%); This study shows that in diets containing calcium pidolate, the reduction of P dig and Ca tot levels by up to -20% compared to the control group did not negatively impact the zootechnical performance of broilers.

INTRODUCTION

En nutrition animale, le calcium (Ca) et le phosphore (P) sont deux minéraux essentiels à la croissance osseuse des poulets de chair (Suchy *et al.,* 2009) et le phosphore est un constituant de nombreuses molécules telle que l'adénosine tri-phosphate par exemple (Soares, 1995). Il provient de réserves mondiales limitées, est soumis à de fortes variabilités de prix et peut avoir un impact environnemental négatif lorsqu'il est excrété en excès (Ryan *et al*, 2013). Le calcium (Ca) est quant à lui connu pour réduire la digestibilité du phosphore lorsqu'il est en trop grande quantité dans un régime (Plumstead *et al*., 2020). Des études préliminaires montrent que l'apport de pidolate de calcium dans l'aliment des poulets de chair permet de renforcer la structure osseuse (Roulleau *et al.,* 2015). Dans un contexte de réduction des niveaux de Ca et P, il permet d'améliorer la digestibilité de ces minéraux et de maintenir de bonnes performances de croissance (Fondevila Lobera *et al*., 2021). Dans cette étude, la réduction des niveaux de Ca tot et de P dig avait été réalisée jusqu'à -20% et avec des aliments contenant de la phytase et du pidolate de calcium. Cette nouvelle étude a pour objectif de montrer, en présence de pidolate de calcium, la limite de réduction du Ca tot et P dig dans l'aliment des poulets ne contenant pas de phytase permettant le maintien de bonnes performances zootechniques des poulets.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et traitements

Au total, 680 poulets mâles Ross 308 ont été répartis en quatre lots, avec 10 répétitions (cases) de 17 poulets par traitement. Le premier traitement (CTRL) était le lot témoin avec des niveaux de calcium total et de phosphore digestible que l'on retrouve sur le terrain dans les élevages de poulets de chair français (Démarrage 0,9 Ca tot - 0,45 P dig ; Croissance Ca tot 0,75 – P dig 0,38 ; Finition Ca tot 0,6 – P dig 0,3). Les autres traitements contenaient trois niveaux de forte réduction de calcium total et de phosphore digestible : le P dig était diminué de 10 à 30% (C-10%, C-20%, C-30) puis le calcium total était adapté en maintenant un ratio Ca/Pdig entre 1,9: 1 et 2,5: 1. Les aliments étaient principalement composés de blé, maïs et tourteau de soja. Les valeurs nutritionnelles de ces aliments (dont le phosphore disponible, Pdisp) sont détaillées dans le tableau 2. Aucune des formules ne contenait de phytase. Le pidolate de calcium (PIDOLin PCa®, DIETAXION) étant reconnu comme un ingrédient favorisant l'absorption du calcium et du phosphore, il a été ajouté, à la même dose (300g/T), en sécurisation dans chacun des traitements de 0 à 21 jours, soit sur les phases de démarrage et de croissance.

1.2. Mesures et analyses statistiques

Les paramètres mesurés étaient le poids des poulets à l'arrivée (J0) et à 35 jours (J35), la consommation entre 0 et 35 jours et le taux de mortalité entre 0 et 35 jours. La qualité de la litière a également été observée à 35 jours d'après la méthode de l'ITAVI (Bignon *et al.* 2015). À J35, 2 poulets par case (20 par traitements) ont été prélevés afin de réaliser des mesures de force de fracture et de rigidité osseuse. Les critères calculés étaient l'indice de consommation (IC) entre 0 et 35 jours, la croissance des poulets (gain moyen quotidien, GMQ) entre 0 et 35 jours, et l'indice européen de performance (European Production Index, EPI) à 35 jours. La formule de l'EPI est la suivante : EPI = (GMQx(1-Mortalité)) / (10xIC). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XLStat (Addinsoft 2021 3.1). Pour les comparaisons de moyennes, si les conditions de normalité et d'homogénéité des variances étaient validées, c'est une ANOVA qui a été faite, sinon, un test de Kruskal-Wallis. Pour le taux de mortalité, c'est un test du Chi² qui a été effectué. Pour le poids, le GMQ et les mesures d'os, l'unité statistique était le poulet, et la case pour les autres critères. Les différences étaient considérées comme significatives à la valeur seuil $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'ensemble des résultats obtenus est synthétisé dans le tableau 1.

Tableau 1 – Performances zootechniques des poulets de chair selon le niveau de réduction de calcium total et phosphore digestible dans l'aliment.

	CTRL	C-10%	C-20%	C-30%	P value
Poids 35j (g)	2613 (214)*	2643 (230)	2663 (228)	2571 (233)	0,117
GMQ 0-35j (g/j)	73,4 (2,3)	74,3 (2,5)	74,8 (2,9)	72,2 (1,5)	0,124
Consommation 0-35j (g/j)	109,3 (3,6)	109,5 (3,3)	109,9 (4,5)	108,0 (2,9)	0,356
IC 0-35j	1,48 (0,02)	1,47 (0,02)	1,46 (0,01)	1,48 (0,02)	0,126
Mortalité (%)	4,1% (5,6)	5,2% (4,8)	4,1% (2,8)	2,4% (4,1)	0,607
EPI 0,35j	477 (27)	479 (28)	491 (20)	477 (15)	0,385
Score litière 35j	2,7 (0,5)	2,5 (0,5)	2,5 (0,4)	2,5 (0,5)	0,597
Force de Fracture 35j (N)	277 (56)	283 (56)	282 (66)	280 (49)	0,961
Rigidité osseuse 35j (N/mm)	136 (16)	145 (24)	137 (17)	131 (22)	0,744

*valeur entre parenthèse correspondant à l'écart-type
GMQ : Gain Moyen Quotidien
IC : Indice de Consommation
EPI : European Production Index

2.1. Poids et croissance

Les poulets ont été répartis de façon à ce qu'ils aient le même poids à J0 (44,3g ; P > 0,05). A 35 jours, il n'y a pas eu de différence significative de poids entre les poulets. Cependant, on observe tout de même une légère augmentation numérique du poids avec la réduction du calcium et du phosphore digestible dans l'aliment jusqu'à moins 20% (C-20%). Dans l'étude de Rousseau *et al*., 2013, c'est une réduction du phosphore non phytique (nPP) qui a été étudiée, associée ou non à une réduction de Ca tot. Une réduction de ces deux minéraux à la fois dans l'aliment croissance et finition n'entraine pas non plus de dégradation du poids des animaux à 35 jours. Nous n'avons pas l'information dans nos formules du nPP. En revanche, les réductions du Ca tot et Pdig s'est faite uniquement via la réduction du carbonate de calcium et du phosphate monocalcique, qui ne contient que du nPP (détail des formules sur demande). Dans notre étude, le poids des poulets à 35 jours semble se dégrader pour une réduction de -30% du P dig (C-30%), passant numériquement en dessous de ceux du lot témoin (CTRL). Les résultats de croissance (GMQ) suivent la même tendance.

2.2. Consommation et indice de consommation

Bien que non significative, on observe numériquement une légère amélioration de la consommation des poulets associés à la réduction du Ca tot et du P dig jusqu'à -20% (C-20%), ce qui est en accord avec les observations de Rousseau *et al*., 2013. Dans notre étude, comme pour le poids et la croissance, cette tendance s'inverse dans le lot C-30% où la consommation est réduite à un niveau numériquement inférieur à celui du lot témoin. De la même façon, l'indice de consommation est numériquement amélioré jusqu'à C-20% et C-30% et est au même niveau que le traitement témoin (CTRL). Dans l'étude de Fondevila Lobera *et al*., 2021, la réduction de Ca tot et de P dig était associée à une dégradation de l'indice de consommation. L'apport de pidolate de calcium dans ce même contexte avait permis d'annuler cet effet en maintenant le même indice de consommation sur les différents niveaux de réduction de Ca et P étudiés.

2.3. Mortalité et indice de performance

Il n'y a pas de tendance particulière sur l'impact de la réduction de Ca et de P sur la mortalité. En revanche, en calculant l'EPI (European Production Index) obtenu en prenant en compte à la fois la croissance (GMQ), l'indice de consommation (IC) et la mortalité, on observe que c'est dans le lot C-20% que la valeur est numériquement meilleure.

2.3. Qualité osseuse

Malgré les fortes réductions de Ca tot et de P dig dans les traitements C-10%, C-20% et C-30% en présence de pidolate de calcium, la qualité osseuse (rigidité et force de fracture) n'est pas dégradée, ce qui est en accord avec l'étude de Fondevila Lobera *et al*., 2021.

2.3. Score de litière

Bien que non significative, il y a numériquement une amélioration de la qualité de litière à 35 jours avec la réduction de calcium dans l'aliment (de 2,7/5 pour le lot CTRL, et 2,5/5 pour les autres traitements), ce qui est en accord avec les observations de Rousseau *et al*., 2013.

CONCLUSION

Cette étude montre qu'en présence de pidolate de calcium (300g/T de J0 à J21) dans des aliments ne contenant pas de phytase, il est possible d'abaisser les niveaux de calcium total et de phosphore digestible jusqu'à Ca tot 0,75% - P dig 0,36% dans l'aliment démarrage ; Ca tot 0,6% – P dig 0,31% dans l'aliment croissance ; Ca tot 0,5% – P dig 0,24% dans l'aliment finition, sans effet néfaste sur les performances zootechniques des poulets de chair. En revanche, dans ce même contexte, il semble risqué de réduire les niveaux de P dig et Ca tot au-delà de -20%.

Tableau 2 – Composition des aliments expérimentaux ne contenant pas de phytase avec plusieurs niveaux de réduction de calcium total et de phosphore digestible.

	STARTER				GROWER				FINISHER			
Constituants analytiques	**CTRL**	**C-10%**	**C-20%**	**C-30%**	**CTRL**	**C-10%**	**C-20%**	**C-30%**	**CTRL**	**C-10%**	**C-20%**	**C-30%**
EM (kcal/kg)	2854				2930				3002			
Protéine brute (%)	21				19,53				17,54			
Lys Dig (%)	1,15				1,04				0,93			
Ca tot (%)	0,9	0,8	0,75	0,7	0,75	0,66	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5
P tot (%)	0,74	0,68	0,63	0,57	0,65	0,61	0,56	0,52	0,55	0,51	0,48	0,43
P dig (%)	0,45	0,405	0,36	0,314	0,38	0,34	0,31	0,27	0,3	0,27	0,24	0,2
P disp (%)	0.48	0.42	0.37	0.31	0.40	0.35	0.31	0.26	0.31	0.27	0.24	0.19
Ratio Ca/Ptot	1,22	1,18	1,19	1,23	1,15	1,08	1,07	1,15	1,09	0,98	1,04	1,16
Ratio Ca/Pdig	2,00	1,98	2,08	2,23	1,97	1,94	1,94	2,22	2,00	1,85	2,08	2,50

Formules principalement à base de Maïs, Blé, Tourteau de soja

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bignon L., Mika, A., Chaudeau, M., Dupin, M., Mercerand, F., Bouvarel, I., 2015. Caractérisation de différents types de litières et effets sur l'apparition et la sévérité des lésions et le comportement des poulets de chair à croissance rapide. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 11, 995-999.

Fondevila Lobera, G., Luna Corrales, N., Melo, J.E., Roulleau, X., Gonzalez Mateos, G., 2021. Effects of calcium pidolate supplementation on performance, Ca P retention, and bone development of broilers fed low Ca P diets. Poultry Science Association Annual Meeting 2021.

Plumstead, P.W., Sinclair-Black. M., Angel, C.R., 2020. The benefits of measuring calcium digestibility from raw materials in broilers, meat breeders, and layers. Australian Poultry Science Symposium 31, 8-15.

Roulleau, X., Pollet, B., Alleno, C., 2015. Influence d'une incorporation de pidolate de calcium d'un aliment poulet de chair sur les paramètres quantitatifs et qualitatifs de production. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 11.

Rousseau, X., Même, N., Magnin, M., Couty, M., Bordeau, T., Narcy, A., 2013. Vers une utilisation efficace des ressources minérales. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 10, 650-654.

Ryan, J., Ibrikci, H., Sommer, R., Rashid, A., 2013. Phosphorus: Agricultural Nutrient *In*: Taylor and Francis eds..Encyclopedia of Environmental Management. 2091-2099. New York, États-Unis.

Soares, J.H.J. 1995. Phosphorus bioavailability *In*: Ammerman, C.B., Baker, D.H. and Lewis, A.J., eds. Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals, and Vitamins. 257-294. Academic Press, San Diego, États-Unis.

Suchy, P., Straková, E., Herzig, I., Steinhauser, L., Králik, G., Zapletal, D., 2009. Chemical composition of bone tissue in broiler chickens intended for slaughter. Czech J. Anim. Sci., 54, 324–330.

Dietaxion
l'éco-performance, ça marche

PIDOLin® PCa

Effet d'une forte réduction de calcium et de phosphore dans l'aliment des poulets sur leurs performances zootechniques

C. MARECAILLE[1], X. ROULLEAU[1], C. ALLENO[2]
[1]DIETAXION - 283 rue Ampère, ZA de la Noë Bachelon - 44430 LE LOROUX BOTTEREAU,
[2]ZOOTESTS, Parc Technologique du Zoopôle, 5 rue Gabriel Calloet-Kerbrat, 22440 PLOUFRAGAN





OBJECTIF : Établir la limite de réduction du calcium total (Ca_T) et du phosphore digestible (P_{dig}) dans l'aliment des poulets de chair permettant le maintien de bonnes performances zootechniques, dans un contexte d'aliment sans phytase et en présence de pidolate de calcium (PIDOLin PCa®).

MATÉRIELS ET MÉTHODES :

Animaux : 680 poulets mâles Ross 308 ont été répartis en quatre lots (17 poulets x 10 répétitions par lot)

Traitements : 4 niveaux de Phosphore digestible et Calcium total :
Contrôle (CTRL), C-10%, C-20%, C-30%
Apport de 300g/T de PIDOLin PCa dans les aliments de 0 à 21 jours

Paramètres :
- Poids et GMQ (Gain Moyen Quotidien)
- Consommation et IC (Indice de consommation)
- Mortalité et EPI (Indice Européen de Performance)
- Qualité Osseuse
- Qualité de Litière

Tableau 1 :
Niveaux de calcium et de phosphore des aliments expérimentaux sans phytase

	DEMARRAGE (0-14j)				CROISSANCE (14-21j)				FINITION (21-35j)			
Lots	CTRL	C-10%	C-20%	C-30%	CTRL	C-10%	C-20%	C-30%	CTRL	C-10%	C-20%	C-30%
Ca_T (%)	0,9	0,8	0,75	0,7	0,75	0,66	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5
P_T (%)	0,74	0,68	0,63	0,57	0,65	0,61	0,56	0,52	0,55	0,51	0,48	0,43
P_{dig} (%)	0,45	0,405	0,36	0,314	0,38	0,34	0,31	0,27	0,3	0,27	0,24	0,2

RÉSULTATS :

Jusqu'à -20% de réduction de P_{dig} et Ca_T (C-20%) par rapport aux niveaux de l'aliment contrôle (CTRL), il n'y a pas eu de dégradation de la croissance, de la consommation, de l'IC, de l'EPI ou de la qualité osseuse. Bien que non significative, la plus forte réduction de P_{dig} et Ca_T (C-30%) entraine une légère réduction de la consommation et de la croissance (P>0,05).

La réduction du calcium et du phosphore dans l'aliment s'accompagne d'une amélioration numérique de la qualité de litière à 35 jours (P>0,05). Le meilleur EPI est obtenu avec une réduction de -20% (C-20%) (P<0,05).

Tableau 2 : Performances zootechniques des poulets de chair selon le niveau de réduction de Ca_T et P_{dig} dans l'aliment

	CTRL	C-10%	C-20%	C-30%	P value
Poids 35j (g)	2613*	2643	2663	2571	0,117
GMQ 0-35j (g/j)	73,4	74,3	74,8	72,2	0,124
Consommation 0-35j (g/j)	109,3	109,5	109,9	108,0	0,356
IC 0-35j	1,48	1,47	1,46	1,48	0,126
Mortalité (%)	4,1%	5,2%	4,1%	2,4%	0,607
EPI 0-35j	477	479	491	477	0,385
Score litière 35j	2,7	2,5	2,5	2,5	0,597
Force de Fracture os 35j (N)	277	283	282	280	0,961
Rigidité osseuse 35j (N/mm)	136	145	137	131	0,744

*valeur moyenne de chaque traitement

CONCLUSION : En présence de pidolate de calcium dans des aliments ne contenant pas de phytase, il est possible d'abaisser les niveaux de Ca_T et de P_{dig} jusqu'à -20% par rapport aux niveaux du lot contrôle, sans effet néfaste sur les performances zootechniques des poulets de chair. En revanche, dans ce même contexte, il semble risqué de réduire les niveaux de Ca_T et de P_{dig} au-delà.

JRA
Quatorzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras,
Tours, 9 et 10 mars 2022
ZOOTESTS

INTERET DE L'UTILISATION D'UN NOYAU PHYTOGENIQUE DANS LA GESTION D'UN POOL DE MYCOTOXINES EN VOLAILLE DE CHAIR EN COMPARAISON À UN CAPTEUR A BASE D'ARGILE : NOUVELLE APPROCHE PAR LA GESTION DES SEUILS DE TOLÉRANCE AUX CONTAMINANTS DE L'ALIMENT

Jaubert Manon, Plichart Gaëtan Vetea

BIODEVAS LABORATOIRES - ZA de l'Épine - 72460 SAVIGNÉ-L'ÉVÊQUE

gplichart@biodevas.fr

RÉSUMÉ

La contamination des aliments par les mycotoxines, impactant les performances des productions animales, est une problématique majeure toujours d'actualité. L'objectif de l'essai de 21 jours réalisé en station expérimentale est d'évaluer l'efficacité d'un additif phytogénique dépourvu d'argile stimulant le métabolisme hépatique des xénobiotiques, sur les performances zootechniques en présence de mycotoxines, en comparaison avec un capteur classique. 240 poussins de 1 jour sont répartis aléatoirement en 4 modalités de 6 répétitions de 10 animaux chacune. La 1ère modalité est le témoin négatif (T-) dont l'aliment n'est pas contaminé. Pour les 3 autres modalités, l'aliment est contaminé par 3 mycotoxines à raison de 1 mg/kg d'aflatoxines, 50 mg/kg de fumonisine et 40 mg/kg de DON avec un témoin positif (T+) ne recevant que l'aliment contaminé, une modalité « capteur » recevant un capteur à base d'argile, d'enzymes et d'extraits de plantes et une modalité « essai » recevant additif phytogénique. À J21, sont mesurés le poids vif (PV), l'indice de consommation (IC), la consommation totale d'aliment, le ratio hauteur des villosités sur profondeur des cryptes intestinales (HV/PC). Les analyses statistiques réalisées sont une analyse de la variance et un test de Bonferroni (p-value ≤ 0,05). L'unité statistique est la répétition. Les animaux de la modalité « Essai » n'ont pas un PV (764g) significativement différent du T- (747,7g) mais significativement supérieur à la modalité « capteur » (714,2g). L'IC de la modalité « essai » est identique à celui du T- (1,57). Le ratio HV/PC est plus élevé pour la modalité essai (10,03) comparé aux autres modalités (T- 8,34, T+ 8,64, modalité « capteur » 7,81). L'additif phytogénique, incorporé à 0,025% a permis d'obtenir de significativement meilleurs sur le poids vif, le poids des foies et le ratio HV/PC comparés à ceux du lot T+, cela malgré l'ingestion de mycotoxines à fortes doses.

ABSTRACT

Interest of using a phytogenic additive in the management of a mycotoxins pool in broiler compared to a clay-based binder: a new approach by raising the tolerance thresholds to contaminants in the feed

Feed contaminations by mycotoxins, which impact performances in animal productions, are still problematic. This trial conducted in an experimental facility for 21 days aims to evaluate the efficiency of a phytogenic additive (clay-free) to stimulate the xenobiotic pathway of the liver, on global performances in presence of mycotoxins in comparison to a classic binder. 240 one-day-old chicks are randomly divided into four groups of six replicates of 10 animals each. One is the control group (T-) with no contaminated feed. For the 3 other groups, the feed is contaminated with 3 mycotoxins at a rate of 1 mg/kg of aflatoxins, 50 mg/kg of fumonisin and 40 mg/kg of deoxynivalenol. Among these 3 groups, one is the positive control (T+) which only receives the contaminated feed, one is the "binder" group and receives the reference binder and the last is the trial group which receives a phytogenic additive incorporated at 0.025% in the feed. At D21 weight, feed conversion ratio (FCR) and villi height / crypt depth ratio (VH/CD) are measured. The statistical analysis are analysis of variance and Bonferroni test (p-value ≤ 0.05). Birds of trial group has a similar weight (764g) than the T- (747.7g) and a higher weight than the binder group (714.2g). The FCR of the trial and negative control group are equal (1.57). The VH/CD ratio of the trial group is higher (10.03) than the other groups (T- 8.34, T+ 8.64 and "binder" group 7.81). The phytogenic additive, incorporated at 0.025% leads birds to have better results on weight, liver weight and VH/CD ratio than the group T+, even though birds consumed mycotoxins.

INTRODUCTION

Parmi plus de 300 mycotoxines identifiées (Leeson et al. 1995), plus d'une trentaine sont toxiques. Les principales mycotoxines retrouvées et posant un problème en productions animales sont les aflatoxines (connues pour être les plus délétères), l'ochratoxine A, les fumonisines, les tricothécènes, la zéaralénone (Miller, 1994) et l'ergot du seigle. Afin de limiter l'impact de ces mycotoxines sur les performances zootechniques des volailles de chair, différentes stratégies peuvent être mises en place : limiter l'apparition des mycotoxines au champs par des techniques culturales adaptées, ajouter des capteurs de mycotoxines à l'aliment afin de diminuer leur biodisponibilité et de limiter l'absorption intestinale de ces molécules en les adsorbants. Une autre approche consisterait à augmenter le seuil de tolérance des animaux aux mycotoxines afin que ces dernières n'impactent pas les performances zootechniques. Cette approche consisterait à stimuler le métabolisme hépatique et notamment le métabolisme des xénobiotiques afin d'améliorer la détoxification de l'organisme. Aujourd'hui, l'approche majoritairement utilisée en nutrition animale est la captation des mycotoxines par les argiles. Plusieurs types d'argiles peuvent être utilisées avec une efficacité qui varie en fonction de la mycotoxine considérée. Ainsi Daković *et al.* ont démontré au travers de plusieurs études en 2005, 2007 et 2008 que toutes les argiles n'ont pas la même efficacité d'adsorption et que celle-ci varie en fonction du type de mycotoxine.

Les aliments n'étant jamais contaminés que par une seule mycotoxine (Forget-Richard et al, 2012 ; Travel et al, 2011), il est fréquent de devoir augmenter le nombre de capteurs différents et leur quantité, ce qui peut entraîner des conséquences sur les qualités nutritives de l'aliment (Elliott C.T. et al.,2020), notamment en ce qui concerne les vitamines et les oligo-éléments.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'un additif phytogénique composé d'extraits naturels de plantes dont *Foeniculum vulgare, Rosmarinus officinalis* et *Thymus vulgaris* (Inédia® de Biodevas Laboratoires) dépourvu d'argile (ci-après nommé Essai) dans la gestion des mycotoxines présentes dans l'aliment des volailles par une approche innovante qui consiste à élever le seuil de tolérance des oiseaux aux mycotoxines et non à diminuer leur biodisponibilité. Cet additif à base d'extraits de plantes reconnues pour avoir des vertus sur le métabolisme hépatique des xénobiotiques parait être une méthode alternative dans la gestion des contaminants de l'aliment sans les capter. Les résultats obtenus sont comparés à ceux d'un produit de référence, capteur de mycotoxines à base d'argile et de substances phytogéniques et d'enzymes (ci-après nommé Capteur) dans un contexte d'un aliment contaminé par 3 mycotoxines différentes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Modèle expérimental

L'essai est réalisé en station d'expérimentation agréée selon les recommandations du MAPA (*Ministério da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento*) pour l'enregistrement des additifs anti-mycotoxines et la « Resolution #879 (February 15th, 2008) » du Brazilian Council of Veterinary Medicine, en ce qui concerne les procédures pour l'expérimentation et le bien-être animal. 240 poussins mâles de 1 jour de souche Cobbs 500 et de poids moyen de 45,7g sont répartis de façon aléatoire en 4 groupes. Chaque groupe est constitué de 6 répétitions de 10 animaux., Tous les groupes reçoivent une formule d'aliment iso nutritive selon les recommandations NRC (1994), l'absence de mycotoxines dans les matières premières de cette formule est vérifiée. Pour 3 groupes, l'aliment est contaminé de façon expérimentale par ajout de 3 mycotoxines produites naturellement par les champignons à raison de 1 mg/kg d'aflatoxines (AF), 50 mg/kg de fumonisine (FUM) et 40 mg/kg de déoxynivalénol (DON). Le groupe ne recevant pas d'aliment contaminé sert de témoin négatif noté « T- ». Parmi les 3 autres groupes, un premier ne reçoit que l'aliment contaminé et sert de témoin positif, noté « T+ ». Un deuxième groupe reçoit l'aliment supplémenté par le capteur à la dose recommandée par le fabricant (soit 0.1%), noté « capteur ». Le troisième groupe reçoit l'aliment contaminé supplémenté avec l'additif phytogénique à la dose de 0.025%, noté « Essai ». L'ensemble des 4 modalités expérimentales est repris dans le tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1 : Modalités expérimentales

Groupe	Nombre d'animaux	Mycotoxines (mg/kg)			
		AF	FUM	DON	% d'incorporation
T-	60	-	-	-	-
T+	60	1	50	40	-
Capteur	60	1	50	40	0,10%
Essai	60	1	50	40	0,025%

1.2. Paramètres mesurés

Toutes les semaines, la consommation d'aliment et le poids vif des oiseaux sont mesurés ou calculés. A la fin de l'essai, sont en plus mesurés et calculés l'indice de consommation. Les animaux sont euthanasiés et les foies sont individualisés puis pesé. Pour chaque modalité, 12 échantillons de sérum sont collectés avant euthanasie des animaux pour quantifier les enzymes hépatiques, protéines totales et le ratio plasmatique Sphinganine / Sphingosine (SA/SO). Pour chaque modalité, 5 échantillons de jéjunum sont collectés et préparés pour lecture histologique afin de pouvoir mesurer le ratio Hauteur des villosité intestinales / profondeur des cryptes (HV/PC).

Les données ont été soumises à une analyse de la variance (ANOVA à 1 facteur). L'unité statistique est la répétition, sauf pour le poids vif (pesées individuelles) et les paramètres biologiques. Les différences de moyennes ont été comparées par un test de Bonferroni (p-value ≤ 0,05). Les analyses ont été réalisées avec le logiciel Statgraphics Centurion XV version 15.1.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Performances zootechniques

A la fin de l'essai, les animaux du lot Essai ont un poids comparable à celui des animaux du Témoin négatif. Le poids des animaux de la modalité Capteur n'est ni différent du poids des animaux du lot Témoin négatif ni de celui des animaux du Témoin positif.

Tableau 2 : Poids vifs (g) des oiseaux à J21

Groupe	J21
Témoin négatif	748 ^{ab}
Témoin positif	701 ^{c}
Capteur Référence	714 ^{bc}
Essai	764 ^{a}
p-value	0,0009
a – c = Les moyennes par colonne avec des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni (P≤0.05).	

Les consommations totales d'aliment (en grammes) par animal à la fin de l'étude pour le Témoin négatif, le Témoin positif, la modalité Capteur et la modalité Essai sont respectivement de 1104.59, 1075.61, 1049.64 et 1118.94 (p-value = 0.094). La consommation d'aliment a ainsi tendance à être similaire entre les 4 modalités bien qu'elle soit numériquement supérieure pour le témoin négatif et la modalité Essai

Les indices de consommation des lots Essai et Capteur sont numériquement identiques à celui du lot Témoin négatif, bien que statistiquement, il n'y a aucune différence entre les 4 lots.

Tableau 3 : Indice de consommation

Groupe	Indice de consommation
Témoin négatif	1,57
Témoin positif	1,64
Capteur	1,57
Essai	1,57
p-Value	0,2120

2.2 Paramètres biologiques

L'ensemble des paramètres biologiques – poids relatifs des foies, sérologies et morphologie intestinale - est présenté dans le tableau 4.

Tableau 4 : Synthèse des paramètres biologiques de l'essai à J21

Paramètres	Témoin -	Témoin +	Capteur	Essai
Poids relatif des foies (%)	2,96^{a}	3,28^{b}	2,8ù7^{a}	2,91^{a}
Protéines totales (g/dL)	2,82^{a}	2,51^{b}	2,81^{a}	2,78^{a}
ALT (U/L)	5,93	5,29	6,04	5,97
AST (U/L)	367	359	383	387
Ratio SA/SO	0,21^{c}	0,76^{a}	0,26^{bc}	0,37^{b}
Ratio HV/PC	8,34^{b}	8,64^{b}	7,81^{b}	10,03^{a}
a – c = Les moyennes par colonne avec des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni (p≤0.05).				

Les animaux de la modalité Essai et de la modalité Capteur ont des foies de poids relatifs similaires à ceux des animaux du lot Témoin négatif. Il en est de même en ce qui concerne la teneur en protéines totales alors qu'on note une hypoprotéinémie chez les animaux du témoin positif. Le ratio SA/SO des animaux du lot Essai n'est pas différent de celui du lot Capteur. Toutefois, ils sont tous les deux significativement différents de celui du lot Témoin positif. Le ratio HV/PC est supérieur pour les animaux du lot Essai.

2.3 Discussion

Les résultats des animaux des groupes témoins positif et négatif sont cohérents vis-à-vis des effets attendus des mycotoxines (Magnin *et al*, 2016). L'augmentation du poids relatif des foies observée sur le groupe témoin positif par rapport aux autres groupes suggère une toxicité hépatique des aflatoxines et des fumonisines (Magnin et al, 2016). L'augmentation du rapport SA/SO du témoin positif est également une conséquence de la perturbation de la synthèse des sphingolipides causée par la présence de fumonisines (Antonissen *et al*, 2015). Le poids vif des animaux du groupe T+ peut aussi être expliqué par la présence de DON. En effet, comme pour la consommation d'aliment, Andretta *et al* (2011) montre que le poids vif est inversement corrélé à la concentration en DON (concentration moyenne 4,29mg/kg). Cependant, dans cet essai, l'impact d'une synergie entre mycotoxines se révèle complexe à mettre en évidence car les effets observés ne sont pas forcément délétères et varient selon les doses et les espèces de volailles. A titre d'exemple Lee *et al.* ont montré en 2012 qu'un mélange d'aflatoxines (2mg/kg) et de DON (2mg/kg) provoquait une baisse de la consommation d'aliments, du taux de ponte et de l'efficacité alimentaire mais n'avait pas d'impact négatif sur le poids vif en poule pondeuse. Cela est cohérent avec les résultats obtenus dans cette étude où une baisse de consommation est observée dans le groupe T+. En revanche, Siloto *et al* (2013) a observé qu'un mélange de fumonisines (25mg/kg) et

d'aflatoxines (1mg) n'impacte ni la consommation d'aliment ni le poids vif, il n'a pas non plus d'impact sur les paramètres biologiques tels que le poids relatif du foie, et cela malgré la toxicité connue de ces deux toxines sur cet organe. Toutefois, dans cette étude, des effets négatifs sur le foie ont pu être mis en évidence avec un mélange aflatoxines, fumonisines et DON à des doses relativement élevées dans le lot Témoin positif laissant supposer une synergie d'action.
Ces effets négatifs ne sont pas mis en évidence chez les animaux du lot Essai, bien qu'ils consomment et absorbent des mycotoxines, contrairement à ceux du lot « capteur ». Pour les animaux ayant reçu l'additif phytogénique, les poids relatifs des foies n'étant pas statistiquement différents de ceux du T-, nous pouvons penser qu'en agissant sur le métabolisme hépatique des xénobiotiques, l'additif a joué un rôle protecteur de l'architecture et de la fonction de l'organe. Cela est conforté par les résultats sérologiques (protéines totale et rapport SA/SO).
Ainsi, au travers des résultats de ce premier essai, l'approche visant à augmenter les seuils de tolérance des animaux aux mycotoxines semble intéressante et permet de pallier les côtés néfastes de la stratégie de la captation (dilution des formules d'aliment lors du fort taux d'incorporation, adsorption des oligo-éléments et vitamines, efficacité dépendante de la mycotoxine). Les effets observés tant sur les paramètres zootechniques que sur les foies sont compatibles avec une stimulation du métabolisme des xénobiotiques, les mycotoxines ingérées seraient alors métabolisées et dégradées par le foie avant de provoquer leurs effets toxiques. Des essais complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette approche notamment par des analyses transcriptomiques ciblant les gènes impliqués dans le métabolisme de détoxification du foie.
De plus, sur d'autres paramètres comme le poids final et le ratio HV/PC, l'additif phytogénique a permis d'obtenir de meilleurs résultats que ceux du capteur voire que ceux du témoin négatif. L'additif phytogénique permettrait donc d'augmenter la surface d'échange de l'architecture intestinale et favoriserait une meilleure absorption des nutriments. Cette hypothèse pourrait expliquer les résultats de poids vifs pour le lot Essai qui sont numériquement supérieurs au témoin négatif, elle demande néanmoins d'être vérifiée par d'autres travaux.

CONCLUSION

Les résultats montrent un effet favorable de la solution testée sur les performances zootechniques malgré l'ingestion d'un aliment fortement contaminé par 3 mycotoxines majeures. Certains paramètres sont même meilleurs que ceux obtenus avec le capteur. On note également un effet favorable de la solution testée sur la préservation du foie et de ses fonctions dans un tel contexte. Cela confirme que la gestion des mycotoxines par élévation des seuils de tolérance peut être une alternative efficace aux capteurs complexes, tout en prenant moins de place dans une formule d'aliment.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Andretta, Ines & Kipper da Silva, Marcos & Lehnen, Cheila & Hauschild, Luciano & Vale, Marcos & Lovatto, P.A.. (2011). Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in broilers. Poultry science. 90. 1934-40. 10.3382

Daković, A., Tomasevic-Canovic, M., Dondur, V., Rottinghaus, G.E., Medakovic, V.,Zaric, S. 2005. Adsorption of mycotoxins by organozeolites. Colloids Surf B Biointerfaces, 46, 20-25.

Daković, A., Matijasević, S., Rottinghaus, G.E., Dondur, V., Pietrass, T., Clewett, C.F. 2007. Adsorption of zearalenone by organomodified natural zeolitic tuff. J. Colloid Interface Sci., 311, 8-13.

Daković, A., Matijasević, S., Rottinghaus, G.E., Ledoux, D.R., Butkeraitis, P., Sekulić, Z. 2008. Aflatoxin B(1) adsorption by natural and copper modified montmorillonite. Colloids Surf B Biointerfaces, 66, 20-25.

Elliott, C.T., Connolly, L. & Kolawole, O. 2020. Mycotoxin Res., 36 : 115–126

Forget-Richard F., Oswald I.P., 2012. Innovations Agronomiques., 24, pp.17-33.

Lee, Jason & Jessen, K & Beltrán Aguedo, Reinel & Starkl, Verena & Schatzmayr, Gerd & Borutova, R & Caldwell, D. (2012). Mycotoxin-contaminated diets and deactivating compound in laying hens: 1. Effects on performance characteristics and relative organ weight. Poultry science. 91. 2089-95. 10.3382

Leeson, S., G. Diaz and J.D. Summers. 1995.Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University Books. Guelph, Canada.

Magnin, Michel & Travel, Angélique & Bailly, Jean & Guerre, Philippe. (2016). Effets des mycotoxines sur la santé et les performances des volailles.

Miller, J D 1994 Conference Report: 6th International Working Conference on Stored-product Protection. *Australian Mycotoxin Newsletter* **5**(2), pages 1 and 8_Travel A., Martin C., Lopes E., Skiba F., Metayer J.P., et al., 2011. Journ. Rech. Avic., 9: 508-512.

Siloto, Estela & Oliveira, E & Sartori, J. & Fascina, Vb & Martins, B & Ledoux, David & Rottinghaus, George & Sartori, Denise. (2013). Lipid metabolism of commercial layers fed diets containing aflatoxin, fumonisin, and a binder. Poultry science. 92. 2077-83. 10.3382

Travel A., Martin C., Lopes E., et al. 2011. Ingestion d'aliments contaminés par plusieurs mycotoxines à faibles doses chez les dindes : effets sur la santé, les performances zootechniques, le métabolisme et l'assimilation des nutriments. 9. Journées de la Recherche Avicole, Tours, France. ⟨hal-02748477⟩

Travel et al. 2017, Innovations Agronomiques 55, Démarche raisonnée pour évaluer l'impact des mycotoxines chez les volailles : qualité sanitaire des produits et critères d'alerte, 327 - 343

INTÉRÊT DE L'UTILISATION D'UN NOYAU PHYTOGÉNIQUE DANS LA GESTION D'UN POOL DE MYCOTOXINES EN VOLAILLE DE CHAIR EN COMPARAISON À UN CAPTEUR À BASE D'ARGILE : NOUVELLE APPROCHE PAR LA GESTION DES SEUILS DE TOLÉRANCE AUX CONTAMINANTS DE L'ALIMENT

Manon JAUBERT, Gaëtan Vetea PLICHART
Biodevas Laboratoires, ZA de l'Épine, 21 rue des Chardons, 72460 Savigné-L'Évêque

Gaëtan Vetea PLICHART
06.47.51.50.44
gplichart@biodevas.fr



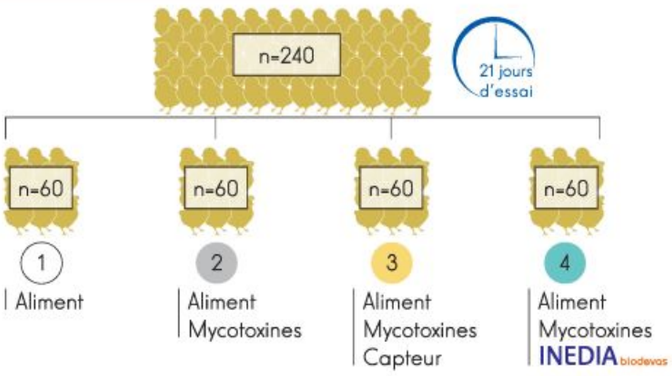
CONTEXTE

La contamination des aliments par les mycotoxines est une problématique majeure. Elle impacte à différents niveaux les productions animales avec des effets sur les performances globales. Parmi plus de 300 mycotoxines, plus d'une trentaine sont toxiques et principalement les aflatoxines, l'ochratoxine A, les fumonisines, les tricothécènes et la zéaralénone. **Une nouvelle approche** de la gestion des mycotoxines en nutrition animale consiste à **augmenter le seuil de tolérance des animaux** aux mycotoxines afin que ces dernières n'impactent pas les performances zootechniques.

OBJECTIF

Évaluer l'efficacité d'un additif phytogénique composé d'extraits naturels de plantes, INEDIA, dans la gestion des mycotoxines présentes dans l'aliment des volailles en comparant ses effets à ceux d'un produit de référence, capteur de mycotoxines à base d'argile, d'extraits de plantes et d'enzymes, présent sur le marché international.

MATÉRIEL ET MÉTHODES



L'ajout d'INEDIA et du capteur aux taux d'incorporation dans l'aliment recommandés par les fabricants se fait selon le plan expérimental ci-dessous :

Groupe	Nombre d'animaux	Pool de mycotoxines (mg/kg)			Produits testés	% d'incorporation
		Aflatoxines	Fumonisines	Déoxynivalénol		
1	60	-	-	-	-	-
2	60	1	50	40	-	-
3	60	1	50	40	Capteur	0,10%
4	60	1	50	40	INEDIA biodevas	0,025%

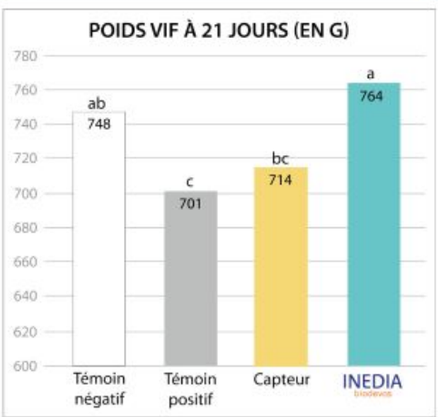
Les paramètres mesurés et calculés après 21 jours d'essai sont :

- Le poids vif
- L'indice de consommation
- Le poids relatif des foies
- Divers paramètres sanguins
- Le ratio de la hauteur des villosités intestinales et la profondeur des cryptes intestinales

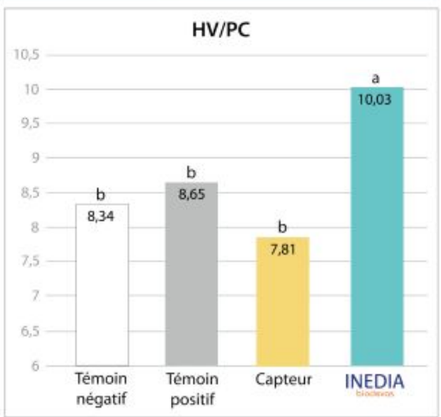
RÉSULTATS

POIDS VIF

Groupe	Poids vif (g)	
	Jour 0	Jour 21
1	46,07	$747,8^{ab}$
2	45,78	$701,1^{c}$
3	45,94	$714,3^{bc}$
4	45,48	764^{a}



RATIO HAUTEUR DE VILLOSITÉ / PROFONDEUR DES CRYPTES



PARAMÈTRES BIOLOGIQUES

Paramètres	Témoin négatif	Témoin positif	Capteur	INEDIA
Poids relatif des foies (%)	$2,96^{a}$	$3,28^{b}$	$2,87^{a}$	$2,91^{a}$
Protéines totales (g/dL)	$2,82^{a}$	$2,51^{b}$	$2,81^{a}$	$2,78^{a}$
ALT (U/L)	5,93	5,29	6,04	5,97
AST (U/L)	367	359	383	387
Ratio Sphinganine/Sphingosine	$0,21^{c}$	$0,76^{a}$	$0,26^{bc}$	$0,37^{b}$

a-b-c : Les moyennes par colonnes avec des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni (P ≤ 0,05).

INDICE DE CONSOMMATION

Groupe	IC
1	1,57
2	1,64
3	1,57
4	1,57

CONCLUSION

Les résultats montrent un effet favorable de la solution testée sur les performances zootechniques malgré l'ingestion d'**un aliment fortement contaminé par 3 mycotoxines majeures**. Certains paramètres sont même meilleurs que ceux obtenus avec le capteur. On note également un effet favorable de la solution testée sur la préservation du foie et de ses fonctions dans un tel contexte. Cela confirme que la gestion des mycotoxines par **élévation des seuils de tolérance** peut être une alternative efficace aux capteurs complexes, tout en prenant moins de place dans une formule d'aliment.

biodevas LABORATOIRES
www.biodevas.fr

UNE ENZYME RECOMBINANTE POUR CONTRECARRER LES EFFETS DE LA ZÉARALÉNONE SUR LES PONDEUSES

Gabardo Lorran[1], Starkl Verena [1], Hoffstetter Ursula[1], Artavia Ignacio[1], Doupovec Barbara[2], Rouxel Laure[3]

[1] DSM Austria - Erber Campus 1 - 3131 GETZERSDORF, Autriche
[2] DSM Research Center - Technopark 1 - 3430 TULLN, Autriche
[3] DSM Nutritional Products France - 71 bd National - 92250 La Garenne-Colombes, France

laure.rouxel@dsm.com

RÉSUMÉ

La zéaralénone (ZEN) est une mycotoxine produite par *Fusarium* sp. dans les céréales utilisées en alimentation animale. En France, sa prévalence est très élevée. Au cours des trois dernières années, jusqu'à 70 % des aliments Volailles ont été contaminés par la zéaralénone. Les principaux impacts de la ZEN sont liés à sa similitude structurelle avec l'hormone œstrogène qui induit des altérations du statut oxydatif et inflammatoire, se traduisant par des troubles de la reproduction et une baisse de la production d'œufs chez les pondeuses. En raison de sa faible polarité, la zéaralénone n'est pas adsorbée efficacement par les capteurs sur base Argile : l'utilisation d'une enzyme est donc une solution pour dégrader ce composé toxique en produits non toxiques. L'essai présenté vise à évaluer la capacité d'une zéaralénone hydrolase (ENZ), enzyme recombinante purifiée, à biotransformer la zéaralénone en métabolite non œstrogénique (HZEN, zéaralénone hydrolysée). 96 poules pondeuses Lohmann Brown sont réparties de manière aléatoire en trois groupes expérimentaux, avec huit répétitions. 3 traitements sont comparés : Témoin négatif (non contaminé), Témoin positif (ZEN = 400 ppb) et Essai (ZEN = 400 ppb + ENZ = 20 U/kg d'aliment). L'essai a débuté à l'âge de 31 semaines et a duré 14 jours. Les paramètres taux de ponte (%), masse moyenne des œufs (g) et indice de consommation (g d'aliment/g d'œuf) ont été enregistrés ainsi que l'efficacité de l'enzyme en contrôlant les concentrations en ZEN et HZEN dans les déjections (ng/g) à la fin de l'essai (J14). Les données ont été analysées par ANOVA (IBM SPSS Statistics 22). Les résultats ont montré que l'enzyme a produit de manière significative (p<0.001) le métabolite détoxifié, avec 67 ng/g de HZEN mesurés dans les déjections. Dans le groupe Essai, les paramètres de performance ont été numériquement améliorés avec augmentation du taux de ponte (+ 4 %), du poids moyen des œufs (+ 1 g par œuf) et réduction de l'indice (- 7 points) par rapport au Témoin positif. La présence de HZEN dans les déjections confirme l'efficacité de la biotransformation par l'enzyme de la zéaralénone en métabolites non œstrogènes chez les pondeuses et les résultats zootechniques montrent une tendance de l'enzyme à améliorer les performances des pondeuses en présence de zéaralénone dans l'aliment.

ABSTRACT

A recombinant enzyme to counteract zearalenone in layers

Zearalenone (ZEN) is a mycotoxin produced by *Fusarium* sp. in grains used for feed. In France, a high prevalence of ZEN was observed during the last three, where up to 70% of poultry feed has been contaminated, according to the Biomin Mycotoxin Survey. The most relevant of its effects are due to the structural similarity between ZEN and the hormone estrogen, which leads to alterations on the oxidative and inflammatory status, reflecting in reproductive disorders and impairment of egg production in breeders and layers. Due to low polarity, ZEN is not effectively adsorbed by typical clay-based binders, therefore an enzyme can be a solution to deactivate this toxic compound into non-toxic products. This trial aimed to evaluate the capacity of a zearalenone hydrolase (ENZ), a recombinant purified enzym, to biotransform ZEN by breaking it down into the non-estrogenic metabolite (HZEN, hydrolysed zearalenon). An amount of 96 Lohmann Brown laying hens were randomly allocated to three experimental groups with eight replicates each. The treatments were: Negative control (not contaminated with ZEN), Positive control (with 400 ppb of ZEN), and Trial (400 ppb of ZEN + 20 Units ENZ/kg feed). The trial started at 31 weeks of age and lasted 14 days. The zootechnical indexes of laying rate (%), average egg mass (g) and FCR (g feed/g egg mass) were recorded, as well as the efficacy of the enzyme by monitoring ZEN and HZEN in excreta (ng/g) at the end of the trial (day 14). The statistical evaluation was done by means of ANOVA (IBM SPSS Statistics 22). The results showed that the enzyme significantly formed the detoxified metabolite (p<0.001), with 67 ng/g of HZEN identified in the excreta. In Trial group, performance parameters showed a numerical increased laying rate by +4 %, average egg weight by +1 g per egg and FCR regarding egg mass was reduced by -7 points when compared to the Positive control. The presence of HZEN in the excreta reflects the effectiveness of the enzym to biotransform ZEN into non-estrogenic metabolites in laying hens, while the zootechnical results show a trend of improvement of the overall performance of the layers exposed to ZEN in the feed.

INTRODUCTION

La zéaralénone (ZEN) est une mycotoxine produite par les champignons de type *Fusarium*, que l'on retrouve fréquemment dans les céréales. Le maïs est connu pour être la denrée la plus contaminée mais elle peut également être retrouvée dans d'autres céréales, comme l'orge, l'avoine ou le blé (Zinedine, *et al.*, 2007). En France, une forte prévalence de ZEN a été observée au cours des trois dernières années où jusqu'à 70 % des aliments Volailles étaient contaminés (Biomin World Mycotoxin Survey, 2021). En raison de sa similitude structurelle avec les œstrogènes, la zéaralénone se lie aux récepteurs œstrogéniques, provoquant des symptômes d'hyper-œstrogénie et interférant avec les fonctions reproductrices des animaux de rente (Vrtačnik *et al.*, 2014). De plus, elle entraîne des altérations du statut oxydatif et inflammatoire, ce qui se traduit par des troubles de la reproduction et une baisse de la production d'œufs chez les reproducteurs et les pondeuses (Grešáková *et al.*, 2011).

Les mycotoxines peuvent être éliminées par des méthodes physiques, chimiques et/ou biologiques. Cependant, en raison de sa structure, la ZEN ne peut pas être adsorbée par les capteurs de type bentonite ou montmorillonite (Fruhauf *et al.*, 2012) et une enzyme spécifique, capable d'ouvrir le cycle lactone de la ZEN, est nécessaire pour réduire l'effet toxique du composé natif (Lyagin et Efremenko, 2019). Dans ce contexte, une enzyme recombinante purifiée (zéaralénone hydrolase, ENZ) a été sélectionnée pour sa capacité à dégrader la zéaralénone en un métabolite non toxique et non œstrogène (Zéaralénone hydrolysée, HZEN) (Fruhauf *et al.*, 2019).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Stratégie expérimentale

L'objectif de l'essai est d'évaluer l'efficacité de l'enzyme recombinante purifiée de type zéaralénone hydrolase (ENZ, ZEN*zyme*®) sur la détoxification de la zéaralénone chez les poules pondeuses nourries avec des aliments contaminés par la zéaralénone. Les concentrations en cette mycotoxine et en son métabolite détoxifié HZEN dans les déjections ont été mesurées dans les déjections des animaux à la fin de l'essai et ont servi de biomarqueurs pour évaluer la détoxification de la zéaralénone chez l'animal. Les performances des poules pondeuses ont également été contrôlées.

1.2. Dispositif expérimental

Dans le cadre de cet essai, 96 poules pondeuses Lohmann Brown ont été réparties de manière aléatoire en trois groupes expérimentaux avec 8 répétitions chacun (4 poules pondeuses par case). Chaque case est équipée d'une mangeoire automatique, d'un abreuvoir cloche et d'un nid de ponte. Les animaux ont un accès libre à la nourriture et à l'eau. L'essai a débuté avec des poules âgées d'environ 31 semaines et la durée de l'essai a été de 14 jours.
Les animaux des groupes Témoin positif et Essai ont reçu un aliment présentant un niveau de contamination alimentaire en zéaralénone de 400 ppb. La contamination a été effectuée par le biais de toxine issue de culture, afin d'assurer que le niveau de contamination est homogène dans tous les groupes et sur toute la période d'essai. Les aliments ont été analysés par HPLC-MS/MS pour valider l'absence d'autres mycotoxines.
La zéaralénone hydrolase ENZ a été intégrée à l'aliment du groupe Essai à une concentration de 20 unités enzymatiques par kg d'aliment.
Le plan expérimental est présenté dans le tableau 1.

1.3. Mesures

L'efficacité de l'enzyme recombinante ENZ a été évaluée en mesurant les concentrations en zéaralénone et en zéaralénone hydrolysée (ng/g) par HPLC-MS/MS dans les déjections des animaux à la fin de l'essai (J14).
Les paramètres de performance, taux de ponte (%), masse moyenne d'œufs (g) et indice de consommation (g d'aliment/g de masse d'œufs), ont également été suivis.

1.4. Analyses des résultats

Toutes les données issues de l'essai et relatives aux performances ont été soumises à une analyse statistique par ANOVA (IBM SPSS Statistics 22).
Les teneurs en zéaralénone et en son métabolite ont été traitées par comparaison non paramétrique des moyennes, test de Tukey pour les 3 groupes.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats ont montré une réduction significative (p<0,001) de la ZEN dans les déjections des animaux du groupe Essai, due à la métabolisation de la zéaralénone en sa forme hydrolysée (HZEN) (Figure 1). Le produit de dégradation non toxique HZEN a été détecté dans les déjections du groupe Essai (67 ng/g) mais pas dans celles du groupe Témoin positif. Selon Fruhauf *et al.* (2019), le métabolite hydrolysé de la ZEN présente une œstrogénicité nettement réduite *in vitro* et *in vivo*, ce qui les rend sans danger pour les animaux.

Au niveau des performances (Tableau 2), aucune différence significative n'a été constatée entre les différents traitements. Cependant, numériquement, le

groupe Essai a montré une meilleure performance globale : le taux de ponte a augmenté de + 4 % (Figure 2A), la masse d'œufs moyenne de + 1 g par œuf (Figure 2B) et l'indice de consommation ramené à la masse d'œufs a été réduit de 7 points (Figure 2C) dans le groupe Essai par rapport au groupe Témoin positif.

Très peu d'études ont été menées sur l'effet de la zéaralénone chez les poules pondeuses, ce qui rend difficile la comparaison des résultats de performance. Malgré tout, Maryamma *et al.* (1992) ont mis en évidence des altérations morphologiques dans l'appareil reproducteur de poules pondeuses lors de l'administration de 10 mg de ZEN/kg de poids corporel et il a été possible de noter une atrophie histologique des cellules épithéliales apicales tandis que l'épithélium glandulaire était hyperactif avec de nombreuses glandes devenant kystiques dans l'oviducte. Par ailleurs, selon Grešáková *et al.* (2011), l'alimentation des pondeuses avec des niveaux élevés de ZEN a également entraîné une augmentation du stress oxydatif par l'augmentation de l'activité de la glutathion peroxydase dans la muqueuse duodénale et les tissus rénaux et une augmentation de la gamma-glutamyl-transférase. Ces facteurs peuvent corroborer l'évolution des paramètres de performance enregistrés pour la production d'œufs dans cette étude.

CONCLUSION

Cet essai montre que les paramètres de concentrations en zéaralénone et en son dérivé hydrolysé dans les déjections des animaux constituent des biomarqueurs pertinents pour valider l'efficacité de l'enzyme recombinante purifiée mise en œuvre au cours de cet essai (zéaralénone hydrolase) pour la détoxification de la zéaralénone en métabolite non toxique.

Les résultats ont démontré que l'enzyme recombinante purifiée ENZ, appliquée à une concentration de 20 U/kg d'aliment, a permis une biotransformation efficace de la ZEN en métabolites non œstrogéniques chez les poules pondeuses et contribue à améliorer les performances globales des animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Biomin World Mycotoxin Survey, 2021. Disponible via : https://www.biomin.net/science-hub/world-mycotoxin-survey-impact-2021/, consulté le 25/11/21.

Fruhauf, S., Schwartz, H., Ottner, F., Krska, R. & Vekiru, E., 2012. Food Additives & Contaminants: Part A, 29 (2), 217-231.

Fruhauf, S., Novak, B., Nagl, V., Hackl, M., Hartinger, D., Rainer, V., Labudova, S., Adam, G., Aleschko, M., Moll, W.D., Thamhesl, M. & Grenier, B., 2019. Toxins, 11 (8), 481.

Grešáková, Ľ., Bořutová, R., Faix, Š., Plachá, I., Čobanová, K., Košíková, B. & Leng, Ľ., 2012. Acta Veterinaria Hungarica, 60 (1), 103-114.

Lyagin, I. & Efremenko, H., 2019. Molecules, 24 (13), 2362.

Maryamma, K. I., Manomohan, C. B., Nair, M. G., Ismail, P. K., Sreekumaran, T. & Rajan, A., 1992. Indian Journal of Animal Sciences, 62 (2), 105-107.

Vrtačnik, P., Ostanek, B., Mencej□Bedrač, S. & Marc, J., 2014. Biochem. Med., 24, 329–342.

Zinedine, A., Soriano, J.M., Molto, J.C. & Mañes, J., 2007. Food Chem. Toxicol., 45, 1–18.

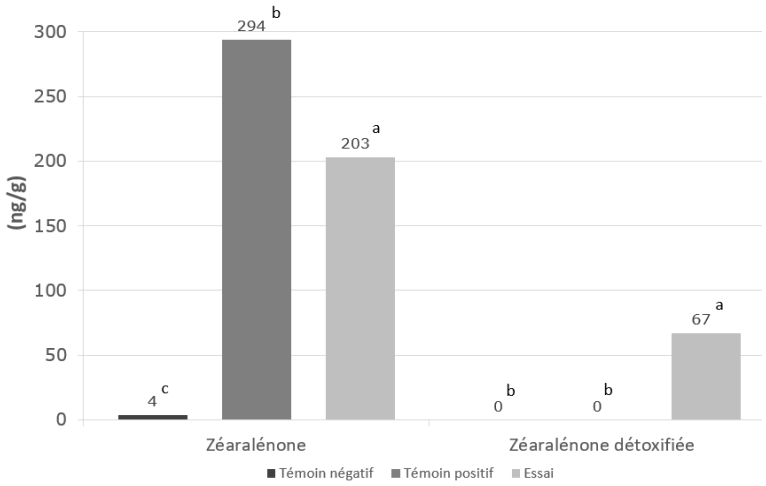
Tableau 1. Plan expérimental

Traitement	Nombre d'animaux	Zéaralénone (ppb)	Zéaralénone hydrolase ENZ (UE/kg d'aliment)
Témoin négatif	32	--	--
Témoin positif	32	400	--
Essai	32	400	20

Tableau 2. Résumé des mesures de performances

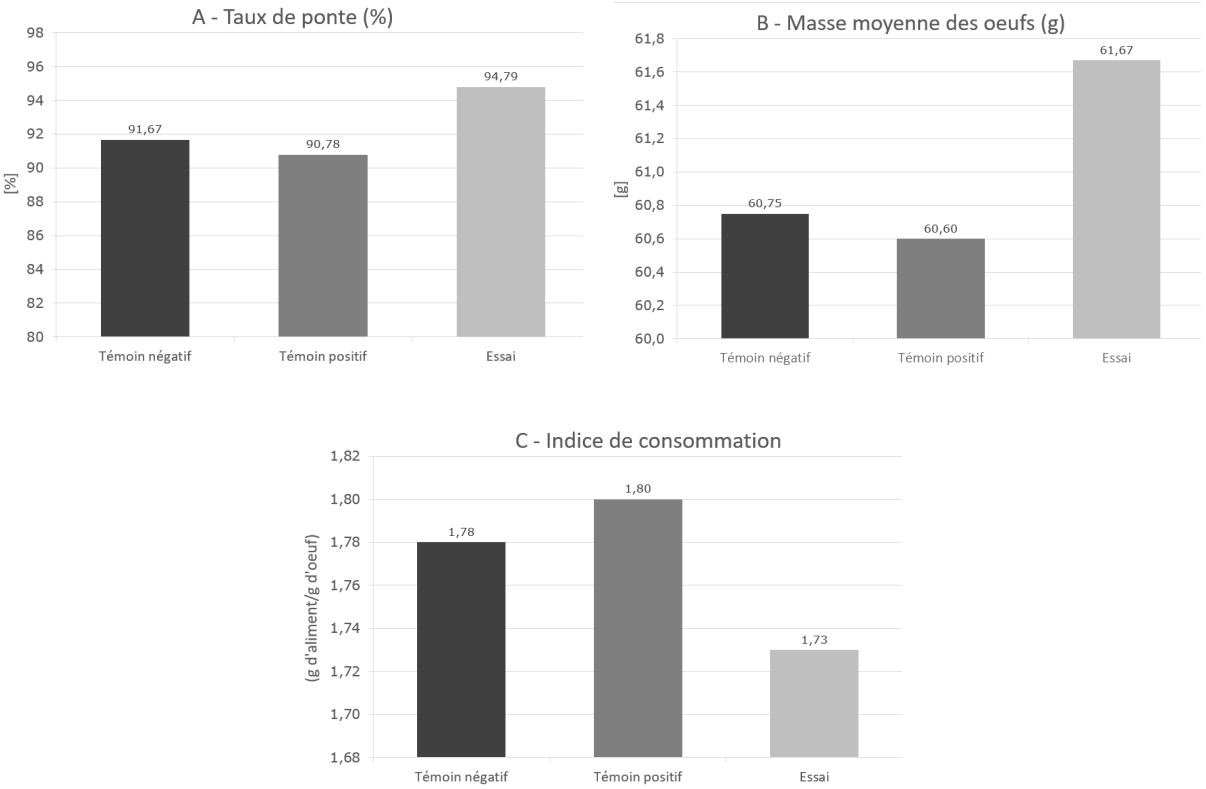
	Témoin négatif	Témoin positif	Essai	p-value
Taux de ponte (%)	91,67 ± 10,63	90,78 ± 7,68	94,79 ± 9,12	> 0,05
Masse moyenne des œufs (g)	60,75 ± 1,48	60,60 ± 2,89	61,67 ± 1,78	> 0,05
IC ramené à la masse d'œufs (g d'aliment/g d'œuf)	1,78 ± 0,23	1,80 ± 0,18	1,73 ± 0,17	> 0,05

Figure 1. Zéaralénone et sa forme détoxifiée (HZEN) dans les déjections (J14, ng/g).



Les lettres différentes indiquent une différence significative (p<0.001).

Figure 2. (A) Taux de ponte en %, (B) Masse moyenne des œufs en g,
(C) Indice de consommation en g d'aliments/g de masse d'œufs. Jours 1 à 14.



POPULATION MICROBIENNE INTESTINALE ET PROFIL D'ACIDES GRAS VOLATILS CHEZ DES POULETS NOURRIS AVEC DE LA LIGNOCELLULOSE

Bogusławska-Tryk M.[1], Szymeczko R. [1], Piotrowska A. [1], Burlikowska K. [1], Śliżewska K.[2], Darras Laure[3]

[1]FACULTY OF ANIMAL BREEDING AND BIOLOGY, UNIVERSITY OF TECHNOLOGY AND LIFE SCIENCES - Mazowiecka 28 - 85-084 BYDGOSZCZ, Pologne
[2]INSTITUTE OF FERMENTATION TECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY, Wolczanska 171/173, 90-924 Lodz, Pologne
[3]JRS RETTENMAIER FRANCE – 20 q. rue Schnapper – 78100 SAINT GERMAIN EN LAYE
Laure.darras@rettenmaier.eu

This article is a summary by Laure Darras of a trial published by the Faculty of Animal Breeding and Biology, Bydgoszcz, under supervision of M. Bogusławska-Tryk

RÉSUMÉ

Cet essai a été mené pour évaluer les effets de l'ajout de lignocellulose sur les performances, le microbiote intestinal, la concentration en acides gras volatils (AGV) et en acide lactique et la valeur du pH dans le digestat iléal et caecal de poulets de chair de 42 jours. Au total, 48 poulets mâles Ross 308 âgés de 21 jours ont été divisés en 4 groupes avec 6 répétitions par traitement. Les régimes expérimentaux sont à base de maïs, blé, triticale, tourteau de soja et différents niveaux de lignocellulose : 0, 0,25, 0,5 et 1,0 %. Il n'y a pas eu d'effet significatif de l'inclusion de lignocellulose dans le régime sur les critères de performances. Les populations de *Lactobacilles* sp. iléales et de *Bifidobactéries sp*. iléale et caecale ont augmenté (P<0,05) et le nombre *d'Escherichia coli* et de *Clostridium sp*. a significativement diminué chez les oiseaux nourris avec des aliments contenant la lignocellulose. La somme des AGV et de l'acide lactique dans les deux segments de l'intestin ainsi que des acides acétique et propionique dans l'iléon et l'acide lactique dans le caecum des poulets nourris avec 0.5% de lignocellulose était significativement plus élevée que celle des oiseaux témoins. Les résultats montrent que l'inclusion de lignocellulose dans l'alimentation des poulets, notamment à la dose de 0,5%, favorise la croissance de *Lactobacilles sp*. et *Bifidobactéries sp*., réduit le nombre d'*E. coli* et de *Clostridium sp*. et augmente la concentration des AGV et de l'acide lactique sans effet substantiel sur le pH du digestat iléal et caecal. L'intensité des fermentations et des quantités significatives d'acide lactique et des AGV, en particulier les acides acétique et propionique, suggèrent l'effet prébiotique de la lignocellulose sur le tractus gastro-intestinal des poulets de chair.

ABSTRACT

Intestinal microbial population and short-chain fatty acid profile in broiler fed with lignocellulose
The study was conducted to evaluate the performance indices, gut microbiota, shortchain fatty acid (SCFA) and lactic acid concentration and pH value in ileal and cecal digesta of 42-day-old broilers fed a diet supplemented with lignocellulose. A total of 48, 21-day-old male Ross 308 chickens were divided into 4 treatment groups with 6 replicates per treatment. Experimental diets were based on maize, wheat, triticale, soybean meal and varied in the amount of lignocellulose: 0, 0.25, 0.5 and 1.0%. There was no significant effect of lignocellulose inclusion into the diet on broiler performance indices. Ileal *Lactobacillus spp.* as well as ileal and cecal *Bifidobacterium spp.* populations increased (P<0.05) and the number of *Escherichia coli* and *Clostridium spp.* significantly decreased in birds fed diets supplemented with lignocellulose. The sum of SCFAs and lactic acid in both intestine segments as well as acetic and propionic acids in ileal and lactic acid level in cecal digesta of chickens fed a diet with 0.5% lignocellulose were significantly higher compared to the control birds. The results show that inclusion of lignocellulose in the chicken diet, especially at a dose of 0.5%, promotes the growth of *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.*, reduces the number of *E. coli* and *Clostridium spp.* as well as enhances the concentration of SCFAs and lactic acid with no substantial effect on the pH of ileal and cecal digesta. The intensity of fermentation and substantial amounts of the lactic acid and individual SCFAs, particularly acetic and propionic acids, may suggest the prebiotic effect of lignocellulose on the broiler gastrointestinal tract.

INTRODUCTION

Le phénomène d'antibiorésistance lié à l'utilisation d'antibiotiques et les risques pour la santé animale et humaine sont connus. Les recherches se sont concentrée sur les matières fermentescibles tels les fructanes, ou les mannan-oligosaccharides, montrant des effets positifs sur la flore, l'intégrité de la muqueuse intestinale, l'activité enzymatique et les performances de poulets de chair (Kim *et al*., 2011; Bogusławska-Tryk *et al*., 2012; Nabizadeh, 2012). Une fibre insoluble, non-fermentescible, contenant de la cellulose et de la lignine, est, de manière conventionnelle considérée comme un diluant et affecte par conséquent l'équilibre énergétique des aliments des poulets de chair (Svihus and Hetland, 2001; Krás *et al.*, 2013), alors que peu d'attention est donnée aux effets de la cellulose et de la lignine sur la population microbienne intestinale. Des études montrent que la cellulose, considérée comme un ingrédient fonctionnel, peut influencer les populations microbiennes, et spécifiquement les flores positives telles les Bifidobactéries et les Lactobacilles, et les pathogènes potentiels, ces effets dépendent du niveau de cellulose et de l'âge de l'oiseau (Cao *et al*., 2003; Saki *et al*., 2010). On suppose que l'influence bénéfique de la cellulose et de la lignine sur le microbiote intestinal affecte le profil de fermentation et la composition du digestat intestinal en acides gras volatils (AGV). Il existe un manque d'informations concernant les effets de la cellulose et de la lignine sur le profil des AGV dans le tractus intestinal des poulets de chair. De plus, il n'existe aucune étude évaluant les effets de la lignocellulose sur la population microbienne ni l'intensité des fermentations intestinales. Le but de cette étude est de déterminer les effets d'un apport de lignocellulose dans des aliments pour poulets de chair sur la microflore intestinale, le contenu en AGV et en acide lactique du digestat iléal et caecal, puis sur les performances de croissance.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et aliments

Les procédures de soins aux animaux ont été approuvées par le Comité d'Ethique de l'Université de Bydgoszcz. Un total de 48 poulets Ross 308 âgés de 21 jours ont été prélevés sur une ferme commerciale. L'humidité, la température et les flux d'air de la station d'expérimentation ont été contrôlés automatiquement. Les oiseaux ont été pesés puis alloués dans l'un des quatre traitements (n=12). Deux oiseaux étaient alloués dans la cage métabolique (6 répétitions par traitements). Les recommandations d'éclairage et d'élevage spécifiques à la génétique ont été suivies. Durant les 3 semaines d'essai (de 21 à 42 jours d'âge), tous les oiseaux ont eu un accès libre à l'eau et ont été nourris *ad-libitum* avec un aliment de base maïs (24,1%), blé (23,1%), triticale (23,6%), tourteau de soja (23,8%), complété par de l'huile de soja, acides aminés essentiels, prémixe minéral et vitaminique et phytase (recommandations nutritionnelles pour Ross 308, 2007). Les aliments expérimentaux ont varié par l'ajout de lignocellulose (Arbocel®, JRS) dans l'aliment de base : 0,0 (groupe témoin), 0,25, 0,5 et 1,0% en remplacement du blé. D'après le fabricant, la lignocellulose contient environ 70% d'ADF et 24% d'ADL. La longueur de fibre est d'environ 200-300 µm et la capacité de rétention en eau de 500-700%. L'analyse des constituants chimiques des aliments se trouve dans le Tableau 1.

Tableau 1. Composition chimique des aliments expérimentaux (g/kg)

	Lignocellulose dans l'aliment %			
	0,0	**0,25**	**0,5**	**1,0**
Matière sèche	908,9	906,9	907,9	905,7
EM (MJ/kg)	12,8	12,9	12,8	12,8
Protéine brute	195,7	197,1	192,5	196,9
Cellulose brute	28,7	29,2	30,0	32,3
Fibres :				
NDF	81,5	81,1	86,6	90,5
ADF	26,9	29,0	32,8	36,6
ADL	4,9	4,9	5,3	6,7

1.2 Protocole expérimental

Les indices de performances au sein de chaque groupe ont été mesurés à 42 jours d'âge. L'IC a été déterminé comme le ratio entre l'ingestion d'aliment et le gain de poids. A 42 jours d'âge après les pesées, les poulets ont été abattus et les organes digestifs ont été rapidement prélevés. Des échantillons de digestat des fractions iléales et caecales ont été prélevés immédiatement de chaque poulet dans des tubes stériles, remplis et mis dans la glace jusqu'à ce qu'ils soient réceptionnés par le laboratoire pour comptage des populations bactériennes, analyses des AGV et acide lactique. Le pH des contenus frais de l'iléum et du cæcum ont été mesurés à l'aide d'un pH-mètre.

1.3. Méthode analytique

Le contenu en matière sèche, protéine brute, lipides, fibres, cendres, ont été déterminés d'après AOAC (1990). La concentration en fibres NDF, ADF et ADL a été analysée d'après Van Soest (1963). La détermination quantitative du microbiote du digestat iléal et caecal a été obtenue par la méthode de Koch. Les échantillons ont été mis en solution tampon puis dilués. Les espèces bactériennes ont été identifiées avec leur milieu d'origine : le nombre de bactéries aérobies et anaérobiques sur plaque d'agar, les Lactobacilles sur MRS agar, les *E. coli* sur Chromocult TBX agar, les Bifidobactéries sur RCA agar et les Clostridium sur DRCM agar. Les cultures faites en trois exemplaires ont été incubées à 37°C.

Les concentration des AGV (formique, acétique, propionique et butyrique) et de l'acide lactique ont été déterminés sur HPLC. La durée d'analyse fut de 40 minutes, à 60°C. Toutes les solutions ont été filtrées à 0.22 µm et un échantillon de 10 µL a été injecté dans un système HPLC pour obtenir les courbes standards. La concentration des AGV individuels et de l'acide lactique ont été estimées en utilisant une méthode standard externe.

1.4 Analyse statistique

Les données sont exprimées en moyennes et erreurs types de la moyenne. Les résultats ont été déterminés par ANOVA et les différences entre les traitements ont été analysés *post hoc* par un test de Tukey's avec le logiciel STATISTICA 8.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Durant l'essai, tous les animaux furent en bonne santé et les performances à 42 jours d'âge satisfaisantes. Il n'y a pas eu d'effet significatif de l'inclusion de lignocellulose sur le gain de poids, l'indice de conversion, et la valeur EEI (Tableau 2). Les résultats des paramètres mesurés se trouvent dans le Tableau 3.

Tableau 2. Résultats de performances (moyenne ±ETM) des poulets âgés de 42 jours

	Lignocellulose dans l'aliment (%)			
Indices	**0,0**	**0,25**	**0,5**	**1,0**
Poids début, g	739 ±4,3	729 ±3,4	735 ±1,3	728 ±3,5
Poids final, g	2422 ±87,3	2423 ±48,4	2436 ±50,9	2429 ±55,6
GMQ, g	80,2 ±4,1	80,65 ±2,2	81,00 ±2,4	81,02 ±2,7
IC, kg / kg	1,87 ±0,1	1,88 ±0,1	1,85 ±0.1	1,88 ±0,1
EEI	620 ±26,2	616 ±8,5	626 ±17,9	618 ±22,1

Tableau 3. Comptage microbiologiques (log_{10} UFC/g digestat), Matière sèche (%), concentration en AGV et acide lactique (µmol / g digestat)

	Lignocellulose dans l'aliment (%)			
	0,0	**0,25**	**0,5**	**1,0**
Aérobies				
Iléum	9,4 ±0,1	9,4 ±0,1	9,6 ±0,0	9,6 ±0,0
Cæcum	9,4 ±0,1	9,4 ±0,1	9,5 ±0,1	9,4 ±0,0
Anaérobies				
Iléum	9,2 ±0,1	9,4 ±0,1	9,3 ±0,1	9,3 ±0,1
Cæcum	9,6 ±0,1	9,6 ±0,1	9,6 ±0,1	9,5 ±0,1
Lactobacilles				
Iléum	7,9 ±0,0^{a}	8,5 ±0,1^{b}	8,6 ±0,1^{b}	8,4 ±0,1^{b}
Cæcum	8,2 ±0,0	8,4 ±0,1	8,4 ±0,1	8,4 ±0,1
Bifidobactéries				
Iléum	7,9 ±0,0^{a}	8,6 ±0,1^{b}	8,6 ±0,1^{b}	8,5 ±0,1^{b}
Cæcum	8,2 ±0,1^{a}	8,8 ±0,1^{b}	8,8 ±0,1^{b}	8,7 ±0,0^{b}
E. coli				
Iléum	6,8 ±0,0^{a}	6,3 ±0,1^{b}	6,2 ±0,1^{b}	6,5 ±0,2^{ab}
Cæcum	6,8 ±0,1^{a}	6,3 ±0,1^{b}	6,2 ±0,1^{b}	6, 7 ±0,1^{a}
Clostridium				
Iléum	5,8 ±0,0^{a}	5,4 ±0,1^{b}	5,3 ±0,1^{b}	5,6 ±0,1^{ab}
Cæcum	5,8 ±0,0^{a}	5,4 ±0,1^{b}	5,4 ±0,1^{b}	5,6 ±0,1^{ab}
Matière Sèche				
Iléum	18,1 ±0,3	18,6 ±0,2	18,3 ±0,6	18,5 ±0,3
Cæcum	18,2 ±1,2	18,1 ±0,7	17,1 ±0,1	17,6 ±0,6
pH				
Iléum	6,6 ±0,3	6,2 ±0,1	6,0 ±0,3	6,1 ±0,2
Cæcum	6,1 ±0,2	6,0 ±0,2	5,7 ±0,1	6,0 ±0,2
Acide formique				
Iléum	6,7 ±2,0	9,3 ±2,6	12,0 ±2,0	8,0 ±1,3
Cæcum	5,7 ±0,7	6,3 ±0,9	6,3 ±0,7	5,9 ±0,4
Acide acétique				
Iléum	9,2 ±2,3^{ac}	7,2 ±2,7^{a}	20,0 ±1,8^{b}	18,3 ±2,8^{bc}
Cæcum	29,3 ±3,2	30,1 ±4,3	32,8 ±4,2	26,0 ±3,0
Acide propionique				
Iléum	3,8 ±1,5^{a}	9,7 ±3,6^{ab}	17,4 ±2,8^{b}	9,2 ±3,1^{ab}
Cæcum	22,0 ±2,2	25,0 ±0,8	26,1 ±2,0	23,7 ±0,8
Acide butyrique				
Iléum	4,5 ±1,4	5,2 ±1,0	5,3 ±1,0	4,5 ±0,7
Cæcum	6,7 ±0,6	6,6 ±0,5	6,4 ±0,6	5,8 ±0,2
Acide Lactique				
Iléum	28,8 ±4,1	29,6 ±5,3	31,6 ±2,3	29,5 ±1,2
Cæcum	60,3 ±2,0^{a}	82,5 ±7,2^{ab}	90,5 ±8,2^{b}	67,2 ±2,3^{a}
Somme des AGV et acide lactique				
Iléum	53,0 ±7,2^{a}	61,1 ±8,7^{ab}	86,1 ±4,3^{b}	69,6 ±3,6^{ab}
Cæcum	123,9 ±4,6^{a}	150,5 ±10,1^{ab}	162,0 ±8,8^{b}	128,6 ±4,7^{a}

Moyenne ±ESM dans une ligne avec des lettres différentes diffèrent significativement (P<0,05)

Il n'y a pas eu de différences (P>0.05) sur le total des populations aérobies et anaérobies dans les digestas de l'iléon et du colon, mais les comptages de Lactobacilles spp., *E.coli* et Clostridium spp. ont été significativement influencés par la présence de lignocellulose dans l'aliment. Il y a eu une augmentation (P<0,05) des *Lactobacilles spp*. iléales, mais aussi des *Bifidobactéries spp*. iléales et caecales, chez les poulets ayant reçu les régimes contenant 0,25 ; 0,5 et 1,0% de lignocellulose par rapport au groupe témoin. Le nombre *d'E. coli* et de *Clostridium spp.* a été significativement réduit dans le digestat de l'iléon et du cæcum des poulets ayant reçu les régimes contenant 0,25 et 0,5% de lignocellulose par rapport au témoin. La matière sèche et le pH n'ont pas été affectés (P>0,05) par la présence de lignocellulose (Tableau 4), cependant il y a eu une tendance pour un pH plus bas chez les poulets recevant les plus hauts niveaux de fibres, spécifiquement à 0,5% de lignocellulose. L'ajout de 0,5% de lignocellulose dans l'aliment a significativement augmenté (environ 63%) la somme des AGV et de l'acide lactique du digestat iléal par rapport au groupe témoin, ainsi que dans le digestat caecal par rapport au groupe témoin et au groupe ayant reçu 1,0% de lignocellulose (environ 31% et 26%, respectivement). De même, le niveau de tous les AGV individuellement observés, à l'exception de l'acide butyrique dans le cæcum, a été le plus élevé dans l'iléon et le cæcum des poulets ayant recu 0,5% de lignocellulose. Des différences significatives dans le digestat de l'iléon ont été mesurées pour les acides lactique et acétique (0,5% de lignocellulose par rapport au témoin et au groupe ayant recu 0,25% de lignocellulose), ainsi qu'en acide lactique dans le digestat de cæcum (0,5% de lignocellulose par rapport au témoin et au groupe ayant recu 1,0% de lignocellulose). En général, l'ajout de lignocellulose dans les aliments, sans considérer la dose, a entrainé une augmentation de l'acide formique, acétique, propionique et lactique dans le digestat de l'iléon et du cæcum, ainsi qu'une augmentation de l'acide butyrique dans le contenu iléal.

Il demeure un manque de données concernant les effets de la lignocellulose dans l'alimentation des poulets de chair sur la croissance, les populations microbiennes intestinales, et les activités de fermentations microbiennes. Dans cette étude, l'inclusion de 0,25-1,0% de lignocellulose n'a pas affecté les paramètres de performances. Ces résultats confirment les conclusions de la plupart des études récentes menées avec de la cellulose pure (Svihus et Hetland, 2001 ; Cao *et al*., 2003; Jiménez-Moreno *et al*., 2009), avec de la lignine (Baurhoo *et al*., 2007a,b), ou avec de la lignocellulose (Farran *et al*., 2013) ajoutés dans l'alimentation des poulets. Cependant, Sarikhan *et al*. (2010) rapportent que l'ajout de niveaux modérés (0,25-0,75%) de fibre insoluble concentrée, contenant 86,5% de fraction ADF, peut influencer positivement la croissance des volaille et l'efficacité alimentaire, surtout en période de croissance.

Il est reconnu que la densité et la diversité des populations microbiennes dans les différentes fractions du tractus intestinal des poulets évoluent de manière significative avec l'âge. La flore microbienne est influencée par de nombreux facteurs, tels le statut santé des animaux, les conditions environnementales, et la composition de l'aliment (Rehman *et al*., 2007). Les résultats de cette étude démontrent que l'ajout de lignocellulose peut avoir un effet stimulateur sur la croissance des bactéries bénéfiques (*Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.*), et limiter la population des pathogènes potentiels (*E. coli* and *Clostridium spp.*) dans le digestats de l'iléon et du cæcum de poulets de chair âgés de 42 jours. Il faut noter par ailleurs que mis à part *Clostridium Perfringens,* tous les *Clostridium spp*. ne sont pas pathogènes. Les mécanismes d'action de la lignocellulose sur la population bactérienne dans le tractus intestinal ne sont pas totalement compris. Il semblerait que ces effets soient liés aux mécanismes d'action de la cellulose et de la lignine sur l'environnement intestinal. Il est documenté que la dégradation des fibres insolubles (fraction NDF) par les enzymes bactériennes des volailles est d'environ 35% (Jamroz *et al*., 2001), mais les effets sur la population microbienne résulterait principalement des propriétés physico-chimiques des fibres. L'effet abrasif des fibres insolubles sur la surface de la muqueuse intestinale favorise l'élimination des bactéries pathogènes capables d'adhérer au mucus, tel *Clostridium perfringens* (Mateos *et al*., 2012). En retour, ce mécanisme pourrait expliquer l'effet sur la croissance du microbiote bénéfique. Des études récentes ont démontré que l'inclusion de cellulose dans l'alimentation des poulets de chair peut modifier le microbiote intestinal en stimulant la croissance des *Lactobacilles* et *Bifidobactéries* Cao *et al*., 2003; Saki *et al*., 2010). Ces micro-organismes, par la libération de bactériocines, inhibent la prolifération des pathogènes dans l'intestin (O'Shea *et al*., 2021). De plus, les composés phénoliques dans la lignine peuvent entrainer la désintégration de la membrane bactérienne, et ainsi inhiber la croissance de micro-organismes dans le tractus intestinal (Nelson *et al*. 1994). De précédentes études ont démontré que l'effet positif de la cellulose et de la lignine sur la microflore iléale et caecale dépend de la dose. Baurhoo *et al.* (2007a) ont montré que l'addition d'un faible niveau (1,25%), et non d'un niveau élevé (2,5%) de lignine, augmente significativement les populations de bactéries lactiques dans le cæcum, par rapport au groupe ayant reçu un aliment sans antibiotiques. De plus, les deux niveaux de lignine ont réduit les *E. coli* dans le cæcum des oiseaux ayant eu un challenge à souches pathogènes d'*E. coli*, et cet effet était lié à la dose. Dans cette présente étude, des niveaux relativement bas de fibres ont été utilisés et les effets

les plus bénéfiques sur la microflore ont été observés avec 0,5% de lignocellulose.

D'autres études évoquent de fortes variations des concentrations d'AGV (11,9-191,4 µmol/g digestat) et de pH (5,0-7,1) dans le contenu intestinal, qui dépendent principalement de l'âge des oiseaux, la composition de l'aliment, le type de fibres et son degré de fermentation (van der Wielen *et al*., 2000; Rehman *et al*., 2007; Jiménez- Moreno *et al*., 2009). Mais il demeure un manque d'informations sur le profil d'AGV des oiseaux ayant été supplémentés en lignine ou cellulose. Dans la présente étude, la population microbienne bénéfique dans l'intestin est aussi lié à un pH plus bas, et a montré la plus haute concentration en acides lactique, acétique et propionique, ainsi qu'en AGV totaux et acide lactique dans le digestat iléal et caecal des poulets ayant reçu 0,5% de lignocellulose. Cela est probablement lié à la fermentation plus intense de la fibre résultant d'une population en bactéries lactiques dans l'intestin plus importante. L'augmentation des concentrations des acides acétique et propionique dans le digestat intestinal est un effet souhaitable. Il est documenté que le propionate, l'acétate et le formate ont des effets toxiques sur certaines bactéries pathogènes *in vitro* (van der Wielen *et al.,* 2000). D'après ce dernier, il existe une corrélation négative entre les concentrations en acétate et les comptages d'Entérobactéries dans le cæcum des poulets de chair.

CONCLUSION

Les résultats montrent que l'inclusion de faibles quantités de lignocellulose dans des aliments pour poulet de chair stimule la croissance des *Lactobacillus spp.* et *Bifidobacterium spp.*, réduisent le nombre de *E. coli* et de *Clostridium spp.* et augmentent la concentration des AGV et de l'acide lactique, sans effet substantiel sur le pH des digestats de l'iléon et du cæcum. La composition de la microflore intestinale, l'intensité des fermentations et la quantité significativement plus forte d'AGV individuels, en particulier les acides acétiques et propioniques, suggèrent l'effet prébiotique de la lignocellulose sur le tractus intestinal des poulets de chair.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Baurhoo B, A Letellier, X Zhao and CA Ruiz-Feria, 2007a. Cecal populations of lactobacilli and bifidobacteria and *E. coli* after in vivo *E. coli* challenge in birds fed diets with lignin or mos. Poult Sci, 86: 2509- 2516.

Bogusławska-Tryk M, A Piotrowska and K Burlikowska, 2012. Dietary fructans and their potential beneficial influence on health and performance parameters in broiler chickens. J Centr Eur Agr, 13: 272-291.

Farran MT, M Pietsch and T Chabrillat, 2013. Effect of lignocellulose on the litter quality and carcass yield of male broilers. Actes des 10èmes JRA, La Rochelle, France, 26-28 mars, 2013, pp: 917-921.

Jamroz D, K Jacobsen, J Orda, J Skorupinska and A Wiliczkiewicz, 2001. Development of the gastrointestinal tract and digestibility of dietary fibre and amino acids in young chickens, ducks and geese fed diets with high amounts of barley. Comp Biochem Physiol A, 130: 643-652.

Jiménez-Moreno E, JM González-Alvarado, A de Coca-Sinova, R Lázaro and GG Mateos, 2009. Effects of source of fibre on development and pH of the intestinal tract of broilers. Anim Feed Sci Tech, 154: 93-101.

Kim GB, YM Seo, CH Kim and IK Paik, 2011. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. Poult Sci, 90: 75-82.

Krás RV, AM Kessler, AML Ribeiro, JDi Henn, II dos Santos, DP Halfen and L Bockor, 2013. Effect of dietary fiber and genetic strain on the performance and energy balance of broilers. Braz J Poult Sci, 15: 15-20.

Mateos GG, E Jiménez-Moreno, MP Serrano and RP Lázaro, 2012. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. Appl Poult Res, 21: 156-174.

Nabizadeh A, 2012. Effets of inulin on broilers microflora, gut and performance. J Anim Feed Sci, 21: 725-734.

Nelson JL, JW Alexander, L Gianotti, CL Chalk and T Pyles, 1994. Influence of dietary fiber on microbial growth in vitro and bacterial translocation after burn injury in mice. Nutrition, 10: 32- 36.

O'Shea EF, PD Cotter, C Stanton, RP Ross and C Hill, 2012. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: Bacteriocins and conjugated linoleic acid. Int J Food Microbiol, 152: 189-205.

Rehman HU, W Vahjen, WA Awad and J Zentek, 2007. Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens. Arch Anim Nutr, 61: 319-335.

Sarikhan M, HA Shahryar, B Gholizadeh, MH Hosseinzadeh, B Beheshti and A Mahmoodnejad, 2010. Effects of insoluble fiber on growth performance, carcass traits and ileum morphological parameters on broiler chick males. Int J Agric Biol, 12: 531-536.

Svihus B and H Hetland, 2001. Ileal starch digestibility in growing broiler chickens fed on a wheat-based diet is improved by mash feeding, dilution with cellulose or whole wheat inclusion. Br Poult Sci, 42: 633-637.

Van der Wielen PWJJ, S Biesterveld, S Notermans, H Hofstra, BAP Urlings and F van Knapen, 2000. Role of VFA in development of cecal microflora in broilers during growth. Appl Environ Microbiol, 66: 2536-2540.

Van Soest PJ, 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. J Assoc Offic Agric Chem, 46: 829-835.

POPULATION MICROBIENNE INTESTINALE ET PROFIL D'ACIDES GRAS VOLATILS CHEZ DES POULETS NOURRIS AVEC DE LA LIGNOCELLULOSE

Bogusławska-Tryk M.[1], Szymeczko R. [1], Piotrowska A. [1], Burlikowska K. [1], Śliżewska K.[2], Darras Laure[3]

[1]FACULTY OF ANIMAL BREEDING AND BIOLOGY, UNIVERSITY OF TECHNOLOGY AND LIFE SCIENCES - Mazowiecka 28 - 85-084 BYDGOSZCZ, Pologne
[2]INSTITUTE OF FERMENTATION TECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY, Wolczanska 171/173, 90-924 Lodz, Pologne
[3]JRS RETTENMAIER FRANCE – 20 q. rue Schnapper – 78100 SAINT GERMAIN EN LAYE - Laure.darras@rettenmaier.eu

This article is a summary by Laure Darras of a trial published by the Faculty of Animal Breeding and Biology, Bydgoszcz, under supervision of M. Bogusławska-Tryk

Introduction

Le phénomène d'antibiorésistance lié à l'utilisation d'antibiotiques et les risques pour la santé animale et humaine sont connus.
Une fibre insoluble, non-fermentescible, contenant de la cellulose et de la lignine, est, de manière conventionnelle considérée comme un diluant et affecte par conséquent l'équilibre énergétique des aliments des poulets de chair (Svihus and Hetland, 2001; Krás *et al.*, 2013), alors que peu d'attention est donnée aux effets de la cellulose et de la lignine sur la population microbienne intestinale. Des études montrent que la cellulose, considérée comme un ingrédient fonctionnel, peut influencer les populations microbiennes, et spécifiquement les flores positives telles les Bifidobactéries et les Lactobacilles, et les pathogènes potentiels, ces effets dépendent du niveau de cellulose et de l'âge de l'oiseau (Cao *et al.*, 2003; Saki *et al.*, 2010).

Le but de cette étude est de déterminer les effets d'un apport de lignocellulose dans des aliments pour poulets de chair sur la microflore intestinale, le contenu en AGV et en acide lactique du digestat iléal et caecal, puis sur les performances de croissance.

Matériel et Méthode

- 48 poulets Ross 308 âgés de 21 jours, durée de l'essai 3 semaines.
- Humidité, température et flux d'air contrôlés automatiquement.
- 4 traitements (n=12) et 2 oiseaux alloués en cage métabolique (6 répétitions par traitements).
- Accès libre à l'eau et à l'aliment : aliment témoin de base maïs (24,1%), blé (23,1%), triticale (23,6%), tourteau de soja (23,8%), complété par de l'huile de soja, acides aminés essentiels, prémixe minéral et vitaminique et phytase. Les aliments expérimentaux varient par l'ajout de lignocellulose (Arbocel® JRS) :

	Lignocellulose dans l'aliment %			
	0,0	**0,25**	**0,5**	**1,0**
Matière sèche	908,9	906,9	907,9	905,7
EM (MJ/kg)	12,8	12,9	12,8	12,8
Protéine brute	195,7	197,1	192,5	196,9
Cellulose brute	28,7	29,2	30,0	32,3
Fibres :				
NDF	81,5	81,1	86,6	90,5
ADF	26,9	29,0	32,8	36,6
ADL	4,9	4,9	5,3	6,7

Mesures et Analyses

- Taux de NDF, ADF et ADL analysés d'après Van Soest (1963).
- Détermination quantitative du microbiote du digestat iléal et caecal par la méthode de Koch. Identification des espèces bactériennes avec leur milieu d'origine et mises sur différents supports de culture.
- Concentration des AGV (formique, acétique, propionique et butyrique) et de l'acide lactique déterminés sur HPLC. Concentrations des AGV individuels et de l'acide lactique estimées par une méthode standard externe.
- Données exprimées en moyennes et erreurs types de la moyenne.
- Résultats déterminés par ANOVA, différences entre les traitements analysés post hoc par un test de Tukey's avec le logiciel STATISTICA 8.

Résultats

Performances zootechniques :

	Lignocellulose dans l'aliment (%)			
Indices	**0,0**	**0,25**	**0,5**	**1,0**
Poids début, g	739	729	735	728
Poids final, g	2422	2423	2436	2429
GMQ, g	80,2	80,65	81,00	81,02
IC, kg / kg	1,87	1,88	1,85	1,88
EEI	620	616	626	618

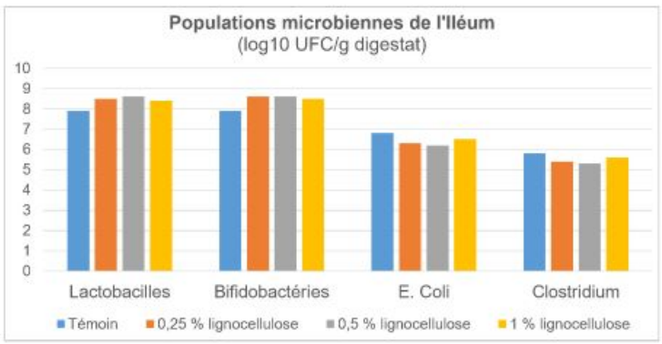
Pas d'effet significatif de l'inclusion de lignocellulose sur le gain de poids, l'indice de conversion, et la valeur EEI

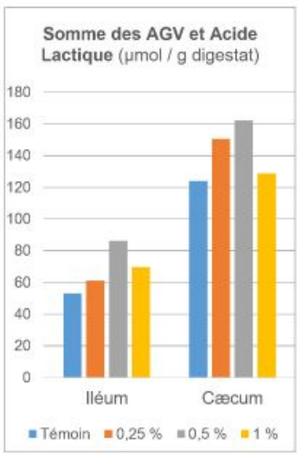
Matière sèche et pH du contenu digestif :

Pas affectés (P>0,05) par la présence de lignocellulose, mais une tendance pour un pH plus bas pour les régimes à hauts niveaux de fibres insolubles, spécifiquement à 0,5% de lignocellulose

Comptages microbiens :

- Pas de différences (P>0,05) sur le total des populations aérobies et anaérobies, mais les comptages de Lactobacilles spp., *E.coli* et Clostridium spp. significativement influencés par la présence de lignocellulose.
- Augmentation (P<0,05) des Lactobacilles spp. iléales, et des Bifidobactéries spp. iléales et caecales, chez les poulets des régimes contenant 0,25% ; 0,5% et 1,0% de lignocellulose par rapport au groupe témoin.
- *E. coli* et Clostridium spp. significativement réduits dans le digestat de l'iléon et du cæcum pour les régimes 0,25% et 0,5% de lignocellulose par rapport au témoin.





Acides gras volatils et acide lactique :

- L'ajout de 0,5% de lignocellulose augmente significativement (environ 63%) la somme des AGV et de l'acide lactique du digestat iléal par rapport au groupe témoin.
- Idem dans le digestat caecal par rapport au groupe témoin : environ +31%.
- Puis dans le digestat caecal par rapport au groupe 1 % : environ +26%.
- Tous les AGV individuels, sauf l'acide butyrique dans le cæcum, sont plus élevés dans l'iléon et le cæcum pour le régime 0,5%.

Discussion

Dans cette étude, l'inclusion de lignocellulose **n'affecte pas les paramètres de performances** de la volaille de chair, ce qui est confirmé par d'autres études menées avec de la cellulose pure, avec de la lignine ou avec de la lignocellulose.

Des chercheurs montrent que l'ajout de **niveaux modérés** (0,25%-0,75%) de **fibres insolubles** concentrées, contenant 86,5% de fraction ADF, **influence positivement la croissance** et l'efficacité alimentaire, surtout en période de croissance.

Les effets sur la population microbienne résulteraient principalement des **propriétés physico-chimiques des fibres**. L'effet abrasif des fibres insolubles sur la surface de la muqueuse intestinale favorise l'élimination des bactéries pathogènes capables d'adhérer au mucus. En retour, ce mécanisme pourrait expliquer l'effet sur la croissance du microbiote bénéfique. De plus, les micro-organismes bénéfiques, par la libération de bactériocines, inhibent la prolifération des pathogènes dans l'intestin.

L'effet positif de la cellulose et de la lignine sur la microflore iléale et caecale **dépend de la dose**. Des études semblent en faveur d'un niveau bas en fibres insolubles (1,25% de lignine).

D'autres études évoquent de fortes variations des concentrations d'AGV et de pH dans le contenu intestinal, qui dépendent principalement de **l'âge des oiseaux, la composition de l'aliment, le type de fibres et son degré de fermentation**. Ici, la population microbienne bénéfique est liée à un pH plus bas, et montre la plus haute concentration en AGV individuels et totaux, et en acide lactique, à **0,5% de lignocellulose**. Cela est probablement lié à la fermentation plus intense de la fibre résultant d'une population en bactéries lactiques plus importante.

Conclusion

L'inclusion de faibles quantités de lignocellulose dans des aliments pour volaille de chair :
- Stimule la croissance des Lactobacillus spp. et Bifidobacterium spp.
- Réduit le nombre de E. coli et de Clostridium spp.
- Augmente la concentration des AGV et de l'acide lactique.

La composition de la microflore intestinale, l'intensité des fermentations et la quantité significativement plus forte d'AGV individuels, en particulier les acides acétiques et propioniques, suggèrent **l'effet prébiotique de la lignocellulose** sur le tractus intestinal des poulets de chair.

ÉVALUATION DE LA BIODISPONIBILITÉ DE SOURCES DE MANGANÈSE COMPARÉES À UN SULFATE DE MANGANÈSE

A. Romeo[1], R. Bouvet[2], C. Bernard[2], C. Alleno[2]

[1]Animine, 10 rue Léon Rey Grange, 74600 Meythet
[2]Parc Technologique du Zoopôle, 5 rue Gabriel Calloet-Kerbrat, 22440 Ploufragan

aromeo@animine.eu

RÉSUMÉ

Chez le poulet de chair, le manganèse (Mn) contribue à la formation du squelette et réduit les risques de problèmes locomoteurs. Notre étude visait à comparer plusieurs oxydes de Mn (MnO), issus de différents processus de fabrication, avec un sulfate de manganèse ($MnSO_4$) standard. L'expérience a été menée sur 9 groupes de 40 poulets de chair femelles, réparties dans des cases de 5 poulets, du 1e au 35e jour de vie. Un contrôle négatif, sans Mn ajouté, était comparé avec des aliments supplémentés avec une dose faible (30 ppm) ou élevée (80 ppm) de Mn, avec un $MnSO_4$, un MnO standard, un MnO purifié (ManGrin® ; Animine) ou un dioxyde de Mn (MnO_2). La ration de base comprenait 35 ppm de Mn. Au jour 35, 12 animaux par traitement ont été abattus. Le tibia a été prélevé sur tous les animaux sacrifiés et le foie l'a été pour 8 animaux par traitement (1 par case). La concentration de Mn a été mesurée dans ces tissus. Une analyse de variance a été effectuée avec le poulet comme unité expérimentale. Une dose croissante de manganèse a augmenté significativement la concentration de manganèse dans l'os et numériquement dans le foie. Le MnO_2 était similaire au contrôle négatif, tous deux inférieurs aux groupes supplémentés avec MnO et $MnSO_4$. Dans le foie, le MnO purifié était significativement supérieur aux oxydes et au contrôle négatif, et numériquement supérieur au $MnSO_4$, avec une biodisponibilité estimée à 157%. Les oxydes semblent avoir une biodisponibilité variable, entre eux et en comparaison avec le $MnSO_4$. Comme pour les oxydes de zinc, ces différences pourraient reposer sur des différences physico-chimiques liées aux méthodes de fabrication.

ABSTRACT
Bioavailability assessment of manganese sources compared to manganese sulfate

For all animal species, including broilers, manganese (Mn) is an essential trace element. It is involved in bone formation and mitigates locomotor problems. The objective of the study was to compare some manganese oxide (MnO) sources, from different manufacturing processes, with the standard manganese sulfate ($MnSO_4$). The experiment was conducted on 9 groups of 40 female broilers, with 5 day-old-chicks per pen, from day 1 to day 35. Broilers fed a corn-wheat-based diet without Mn supplementation (35 ppm of native Mn) or supplemented with a low (30 ppm) or a high (80 ppm) dose of Mn from $MnSO_4$, a standard MnO source, a purified MnO source (ManGrin®; Animine) or Mn dioxide (MnO_2). At the end of the experiment, 12 broilers per treatment were sacrificed. Tibia was sampled in all sacrificed animals and liver was taken in 8 animals per treatment (1 per pen). Mn concentration was measured in the tissues. Increasing dietary Mn doses increased Mn concentration, significantly in bone and numerically in liver. Values obtained with MnO_2 were similar to values obtained with the negative control, below results of the other supplemented groups. In liver, the purified MnO source increased the Mn concentration, significantly compared to the negative control and to other oxide sources, numerically compared to $MnSO_4$. Its relative bioavailability value was estimated at 157% compared to the standard $MnSO_4$. In conclusion, the manganese oxide sources showed different bioavailability values. These differences could be related to the physicochemical characteristics of the products, as it was demonstrated with zinc oxide sources.

INTRODUCTION

Le manganèse (Mn) s'intègre à de nombreuses enzymes et joue un rôle essentiel dans le bon développement des animaux : par exemple, il protège le système nerveux (Horning et al., 2015) et régule le stress oxydatif (Piešová et al., 2019). Chez le poulet de chair, il contribue à la formation du squelette et réduit les risques de problèmes locomoteurs (Olgun, 2017). Sa biodisponibilité varie selon les sources. La littérature indique que les oxydes sont moins biodisponibles que le sulfate (EMFEMA, 2002). Notre étude visait à comparer plusieurs sources de Mn, issus de différents processus de fabrication, avec un $MnSO_4$ standard.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et aliments expérimentaux

L'étude a été menée sur 360 poulets femelles (Ross 308), réparties dans 72 cases de 5 individus, en fonction de leur poids. L'expérience a duré 35 jours, de l'éclosion à l'abattage.
Les oiseaux ont été nourris *ad libitum* avec un aliment formulé sur une base de maïs, de blé et de tourteau de soja. Les poulets ont consommé un aliment de démarrage jusqu'au 21^{e} jour (PB 20,7% et EM 2800 kcal/kg), puis un aliment de finition jusqu'au 35^{e} jour (PB 17,5% et EM 3000 kcal/kg). Ils ont été divisés dans 9 groupes expérimentaux, qui incluaient un contrôle négatif (CN) sans addition de manganèse et un plan factoriel 4 sources x 2 doses. Le contrôle négatif comportait 35 ppm de Mn natif. Les aliments expérimentaux étaient supplémentés avec un sulfate de manganèse ($MnSO_4$), un oxyde de manganèse standard (MnO), un oxyde de manganèse purifié (ManGrin® ; Animine) ou un dioxyde de manganèse (MnO_2), avec une dose faible (30 ppm) ou élevée (80 ppm).
Les aliments ont été analysés pour la teneur en Mn et ont été considérés conformes.

1.2. Mesures

Le dernier jour de l'essai, à 35 jours d'âge, 12 animaux par traitement ont été abattus. Le tibia a été prélevé sur tous les animaux sacrifiés et le foie l'a été pour 8 animaux par traitement (1 par case). La concentration de Mn a été mesurée dans ces tissus.

1.3. Analyses statistiques

La normalité des données était vérifiée pour chaque paramètre avec le test de Shapiro, et l'homogénéité des variances avec le test de Bartlett. Si un de ces deux tests n'était pas concluant, les données étaient analysées avec le test Kruskal-Wallis. Dans le cas contraire, les données étaient analysées avec une analyse de la variance (ANOVA), en utilisant le poulet comme unité expérimentale. L'effet de la source, l'effet de la dose et leur interaction ont été testés.
Une régression linéaire est réalisée sur le logiciel R, basée sur la concentration hépatique de Mn en fonction de la quantité de Mn ingéré, pour évaluer la biodisponibilité relative de chaque source comparée au sulfate.
Les différences étaient considérées significatives pour une p-value $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La concentration de Mn a augmenté avec des doses croissantes de Mn dans l'aliment, significativement dans l'os ($P < 0,01$) et numériquement dans le foie (Tableau 1).

Tableau 1. Concentration de Mn dans l'os et dans le foie en fonction de la dose supplémentée

	0 ppm	30 ppm	80 ppm	P-value
Tibia	6,1^{a}	6,8^{b}	8,1^{c}	< 0,01
Foie	2,23	2,51	2,65	0,18

En ce qui concerne l'effet de la source, des différences significatives ont été mesurées dans les deux tissus. Dans l'os comme dans le foie, les résultats de MnO_2 ne différaient pas du contrôle négatif. Les concentrations les plus élevées étaient obtenues avec les groupes supplémentés avec $MnSO_4$ et avec le MnO purifié, sans différence significative (Tableau 2).

Tableau 2. Concentration de Mn dans l'os et dans le foie en fonction de la source supplémentée

	Tibia	Foie
Contrôle	6,1^{b}	2,23^{c}
MnSO4	8,4^{a}	2,61^{ab}
MnO standard	7,7^{a}	2,49^{bc}
MnO purifié	7,9^{a}	2,82^{a}
MnO_2	6,0^{b}	2,40^{bc}
P-value	P < 0.01	P < 0,05

Les concentrations de Mn dans le foie en fonction du Mn ingéré ont été utilisées pour effectuer une régression linéaire, qui a mis en évidence des pentes différentes (Figure 1). En utilisant $MnSO_4$ comme référence à 100%, la biodisponibilité est estimée à 157% pour le MnO purifié, 66% pour le MnO standard et 33% pour MnO_2. Ces résultats rejoignent ceux enregistrés dans la littérature : 70 à 100% pour MnO, 31% pour MnO_2 (EMFEMA, 2002).
La biodisponibilité du Mn dépend de la source. Celle des oxydes est généralement considérée inférieure à celle de $MnSO_4$ (Olgun, 2017). Néanmoins, tous les

oxydes ne sont pas équivalents, autant sur leur forme moléculaire (MnO ou MnO_2) que sur leurs propriétés physico-chimiques. Ils présentent également des valeurs de biodisponibilité différentes, relevées dans la littérature et mesurées dans notre étude. La même observation a été réalisée sur les oxydes de zinc (ZnO), dont la biodisponibilité varie de 66 à 126% selon la source utilisée et le critère mesuré (Narcy et al., 2015). Un lien entre les propriétés physico-chimiques des sources de ZnO, en particulier la taille des agrégats et l'aire de la surface spécifique, et leur biodisponibilité a été démontré (Cardoso et al., 2021). Les oxydes de Mn présentent également une grande diversité, par exemple sur la distribution des particules et le taux de poussière, qui pourrait expliquer en partie la variabilité des valeurs de biodisponibilité obtenues en poulet de chair.

CONCLUSION

Les oxydes de Mn présentent une biodisponibilité variable : MnO_2 est très peu biodisponible, tandis que d'autres sources peuvent être comparées à $MnSO_4$. De futures études porteront sur le lien éventuel entre leurs propriétés physico-chimiques, dépendantes des procédés de leur fabrication, et leur biodisponibilité *in vivo*, en s'appuyant sur les études déjà réalisées sur les oxydes de zinc.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Cardoso D., Roméo A., Durosoy S., Même N., Chevalier Y., Narcy A., 2021. British Poultry Science.

EMFEMA, 2002. Bioavailability of major and trace minerals, 84-89.

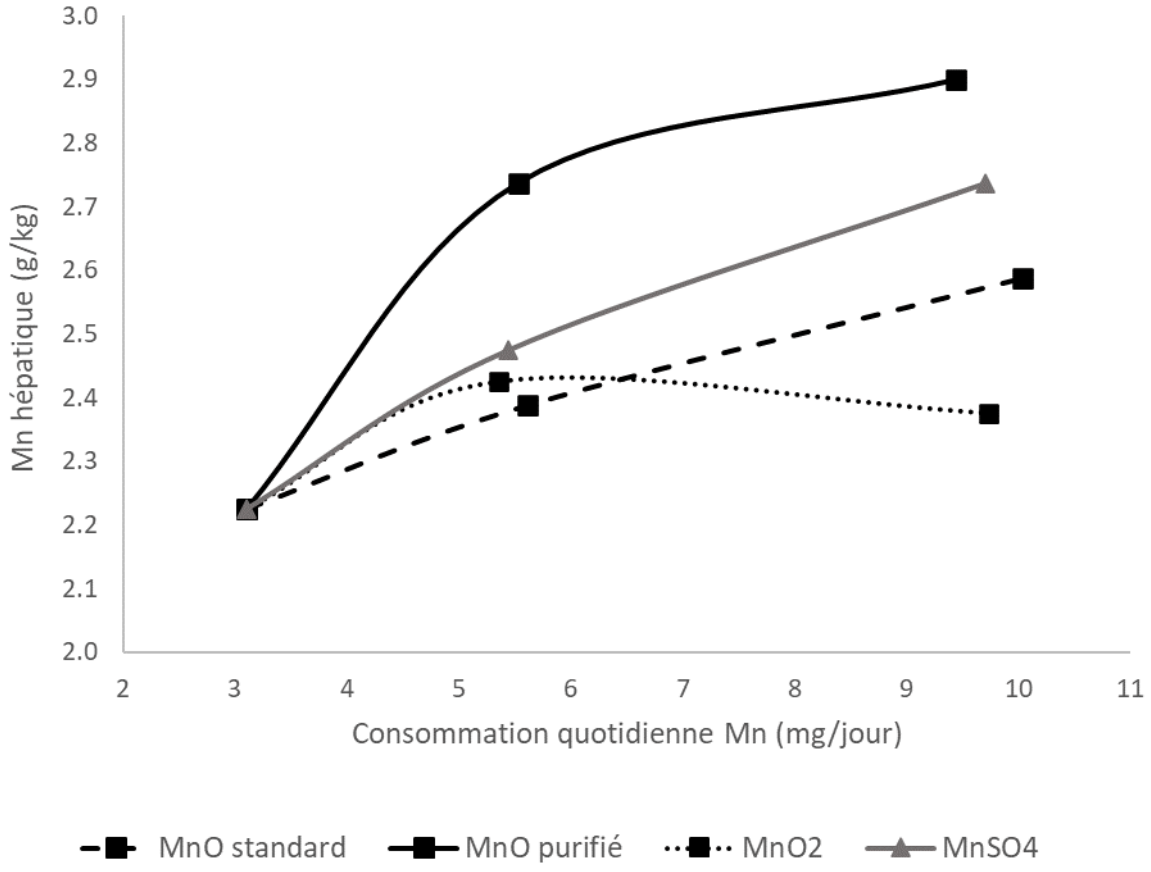
Horning K., Caito S. W., Tipps K. G., Bowman A. B., Aschner M., 2015. Annu Rev Nutr., 35, 71–108.

Narcy A., Roméo A., Même N., Nys Y., Durosoy S., 2015. Onzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 675-678.

Olgun O., 2017. World's Poultry Science Journal, Vol. 73, 1-11.

Piešová E., Faixová Z., Maková Z., Venglovská K., Grešáková Ľ., Faix Š., Čobanová K., 2019. Czech J. Anim. Sci., 64: 99-106

Figure 1. Concentration de Mn dans le foie en fonction de la quantité de Mn ingéré et de la source de Mn



Évaluation de la biodisponibilité de sources de manganèse comparées à un $MnSO_4$

A. Romeo[1], R. Bouvet[2], C. Bernard[2], C. Alleno[2]
[1]Animine, 10 rue Léon Rey Grange, 74960 Meythet
[2]Zootests, Parc Technologique du Zoopôle, 5 rue Gabriel Calloet-Kerbrat, 22440 Ploufragan

OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

La biodisponibilité du manganèse (Mn) varie selon les sources. La littérature indique que les oxydes sont moins biodisponibles que le sulfate ($MnSO_4$). Notre étude visait à comparer plusieurs sources de Mn, issus de différents processus de fabrication, avec un $MnSO_4$ standard.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animaux
360 poulets femelles (Ross 308) suivies depuis le jour de l'éclosion
72 cases de 5 individus (8 répétitions)

Régimes expérimentaux
Base maïs, blé, tourteau de soja
- ✓ Démarrage (0-21 jours) : PB 20,7%, EM 2800 kcal/kg)
- ✓ Finition (21-35 jours) : PB 17,5% et EM 3000 kcal/kg)

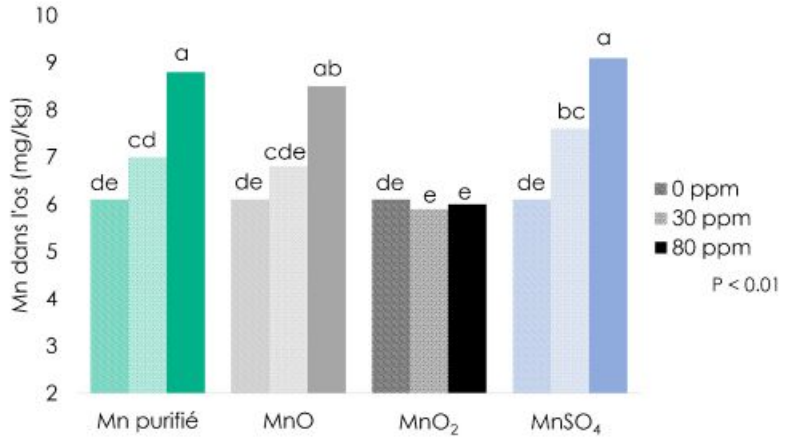
9 groupes expérimentaux :
- contrôle négatif (NC) sans Mn ajouté
- 4 sources : $MnSO_4$, MnO standard, MnO_2 ou Mn purifié (MnO, Mangrin®)
- 2 doses : 30 ppm ou 80 ppm

Mesures
Abattage des animaux à 35 jours
- ✓ Concentration Mn dans le tibia (12 par traitement)
- ✓ Concentration Mn dans le foie (8 par traitement)

Analyses statistiques
- L'unité expérimentale était le poulet.
- ANOVA (données normales, variances homogènes) ou Kruskal-Wallis (données non normales, variances hétérogènes)
- Biodisponibilité évaluée par régression linéaire (Mn du foie en fonction du Mn ingéré)
- Différence significative pour $P < 0,05$

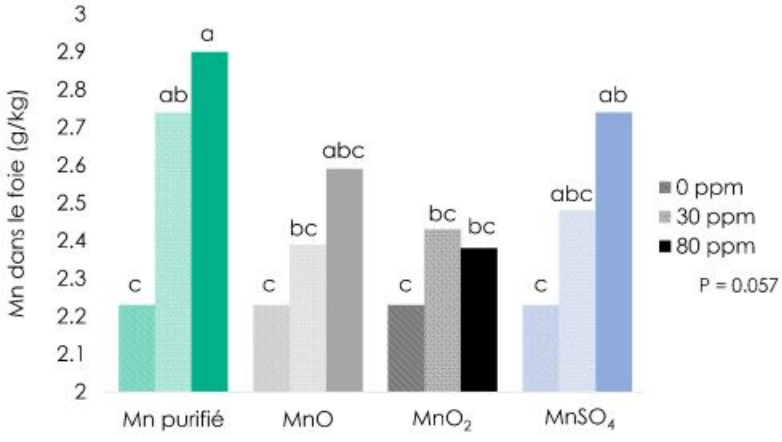
RÉSULTATS

Les doses croissantes de Mn ont significativement ($P < 0,01$) augmenté la concentration de Mn dans l'os. Un effet-source significatif ($P < 0,01$) a également été mesuré : la source de Mn purifié, $MnSO_4$ et le MnO standard ont augmenté la teneur en Mn de l'os, tandis que le groupe nourri avec MnO_2 s'est maintenu au même niveau que le contrôle négatif.



Concentration de Mn dans l'os en fonction de la dose et de la source

Dans le foie, des concentrations croissantes de Mn ont été mesurées, en lien avec les doses croissantes de Mn dans l'aliment ($P = 0,18$). L'effet-source était significatif ($P < 0,05$), avec des teneurs moyennes entre 2,23 (contrôle) et 2,82 g/kg (Mn purifié).



Concentration de Mn dans le foie en fonction de la dose et de la source

Dans notre étude, le foie s'est avéré plus sensible que l'os à l'apport en Mn (effet MnO_2 faible mais visible). Les résultats obtenus dans le foie ont donc été utilisés pour évaluer la biodisponibilité relative de chaque source, avec $MnSO_4$ comme référence : 157% pour le Mn purifié, 66% pour le MnO standard et 33% pour MnO_2.

CONCLUSION

Les oxydes de Mn présentent une biodisponibilité variable : MnO_2 est très peu biodisponible, tandis que d'autres sources peuvent être comparées à $MnSO_4$, comme le Mn purifié.

EFFET D'UNE SOURCE D'OLIGO-ELEMENTS COMBINEE OU NON A L'ACIDE BUTYRIQUE SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE DES POULETS

M. Huard[1], R. Davin[2], F. Molist[2] et S. Peris[1]

[1]NOVUS Europe- Leuvensesteenweg 643, Box 15, 1930 ZAVENTEM, Belgique
[2]SCHOTHORST Feed Research - Meerkoetenweg 26, 8218 NA LELYSTAD, Pays-Bas
mireille.huard@novusint.com

RÉSUMÉ

Les oligoéléments (Zn, Cu, Mn) ainsi que les acides organiques, par leur action sur la structure de l'épithélium, la flore intestinale et la fonction immunitaire, peuvent être utilisés comme sources préventives de la santé intestinale des poulets. En particulier, les chélates d'hydroxy-analogue de méthionine et d'oligoéléments (CHAM), dont la biodisponibilité est supérieure aux sources d'oligoéléments inorganiques (OEI), ont été étudiés en remplacement de sources inorganiques d'oligoéléments et de butyrate de calcium, sur la performance de croissance des poulets de chair. 26240 poulets Ross 308 ont été répartis aléatoirement dans 32 parquets et élevés de 1 à 38 jours. Les parquets ont été alloués à quatre traitements alimentaires différents (8 répétitions de parquets par traitement, 820 oiseaux par parquet), dans un plan en blocs complets randomisés. Les traitements étaient : 1) DL-Met et OEI + butyrate, 2) HMTBa (hydroxy analogue de méthionine) et CHAM (taux réduits de Zn, Cu, Mn par rapport au témoin), 3) HMTBa et OEI + butyrate, et 4) DL-Met et des CHAM (même niveau que 2). Les régimes étaient à base de blé et tourteaux de soja et supplémentés avec 1000 FTU /kg de phytase, sans inclusion d'enzyme carbohydrase, afin de susciter un challenge modéré de dégradation de la santé intestinale. L'analyse statistique des résultats réalisée avec le logiciel GenStat de Windows (20th édition) effectuée par Anova a permis de conclure que la performance des poulets de chair à 38 jours, la qualité de litière et le score de pododermatites étaient similaires dans tous les traitements. Ces résultats confirment que l'utilisation de DL-Met, OEI et butyrate peut être remplacée par HMTBa en combinaison avec une inclusion plus faible de CHAM de Zn, Cu et Mn dans les régimes alimentaires des poulets de chair.

ABSTRACT

Effect of a source of trace elements combined or not with butyric acid on growth performance of chickens

Trace elements (Zn, Cu, Mn) as well as organic acids have a role on epithelial structure, intestinal flora and immune function, which allows them to be used as preventive sources of intestinal health in chickens. Chelates of hydroxy-analogue of methionine and trace elements (CHAM), whose bioavailability is superior to inorganic trace element sources (OEI) were studied as replacement for inorganic sources of trace elements and calcium butyrate on the growth performance of broilers. 26240 Ross 308 chickens were randomly allocated to 32 flocks and reared from 1 to 38 days. Flocks were allocated to four different dietary treatments (8 replicates of pens per treatment, 820 birds per pen) in a randomized complete block design. Treatment diets were: 1) DL-Met and OEI + butyrate, 2) HMTBa (methionine hydroxy analogue) and CHAM (reduced Zn, Cu, Mn compared to control), 3) HMTBa and OEI + butyrate, 4) DL-Met and CHAM (same level as 2). All experimental diets were based on wheat-soybean meal and were supplemented with 1000 FTU/kg of phytase, but without inclusion of carbohydrase, to condition a moderate challenge to gut health. Response parameters were production performance, mortality, visual litter score and podermatitis score. Statistical analysis of the results using Windows GenStat (20th edition) software performed with Anova concluded that broiler performance at 38 days was similar in all treatments. No differences among treatments were observed in visual litter quality and none of the treatments increased the risk of footpad dermatitis. This confirms that the use of OEI and butyrate can be replaced by a lower CHAM inclusion of Zn, Cu and Mn in broiler diets.

INTRODUCTION

Une bonne santé intestinale et un microbiote optimal sont nécessaires pour optimiser les performances des volailles (Yadav et al. 2019). Face à la montée croissante des préoccupations des filières concernant l'efficacité économique, le bien-être des animaux, et les impacts environnementaux, il est crucial de trouver des stratégies préventives qui permettent de produire à moindre coût tout en garantissant les meilleures performances des animaux.
Les oligoéléments, et en particulier Zinc, Cuivre et Manganèse, par leurs implications dans de nombreux processus enzymatiques, présentent de nombreux intérêts pour l'animal ; comme la meilleure intégrité des tissus et des os, l'immunité ou la croissance cellulaire (Suttle, 2010). Du fait de leur biodisponibilité supérieure (Manangi et al. 2012) et de la réduction des interactions antagonistes qu'ils peuvent avoir avec le reste de la ration, les oligoéléments sous forme organique présentent un intérêt supplémentaire pour augmenter les performances des animaux tout en limitant les rejets dans l'environnement.
L'objectif de l'étude était de comparer l'effet de taux réduits d'oligoéléments chélatés CHAM par rapport à une source d'oligoéléments inorganiques OEI complémentée avec du butyrate, sur les performances et la santé des poulets de chair, en situation de challenge modéré de santé intestinale.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

26240 poulets Ross 308 ont été répartis aléatoirement dans 32 parquets et élevés de 1 à 38 jours. Les parquets ont été alloués à quatre traitements alimentaires différents (8 répétitions de parquets par traitement, 820 oiseaux par parquet), dans un plan en blocs complets randomisés.

1.2. Conditions d'élevage

Les animaux étaient placés dans 2 salles de 16 parquets chacune. Chaque parquet a une surface de 47,5m2 et contenait 820 poulets de chair. La densité des parquets au début de l'expérience était de 17,2 poulets de chair/m2, soit environ 39 kg/m2 avant la livraison à l'abattoir. Le bâtiment d'élevage était éclairé artificiellement, chauffé et ventilé. De l'aliment et de l'eau étaient disponibles pour une prise ad libitum.

1.3. Protocole expérimental

L'expérience comportait un plan en blocs complètement randomisés avec quatre traitements alimentaires et huit enclos répétés (=unité expérimentale) par traitement. L'expérience a été divisée en trois périodes ou trois phases d'alimentation, la période de démarrage de J0-10, la période de croissance de J10 à J28 et la période de finition de J28 à J38. Les traitements alimentaires différaient dans les produits testés selon le tableau 1.
Tous les régimes, formulés sur la base des recommandations du CVB 2018, principalement à base de blé et tourteaux de soja, ont été supplémentés en phytase (AxtraPhy®, 1000 FTU/g) mais pas en carbohydrase, afin de susciter un challenge modéré de dégradation de la santé intestinale. Les aliments ont été granulés.

1.4. Mesures

Le poids vif à l'arrivée a été déterminé par la sélection aléatoire d'environ 100 poussins. Durant l'essai, le poids vif a été mesuré à l'aide de plateformes de pesées, et enregistré par parquet. Le gain de poids vif pour chaque parquet a été calculé par différence entre le poids moyen à la fin de chaque période, et le poids moyen au début de la période. Il a été corrigé de la mortalité en prenant comme poids moyen des morts la formule suivante : (nb de morts du jour x)* 0.8* (poids moyen du jour x) pour chaque jour de chaque période. Le facteur 0.8 est utilisé pour tenir compte du poids généralement plus faible des individus étant plus susceptibles de mourir.
L'ingéré a été automatiquement mesuré par parquet. L'indice de consommation IC a été calculé avec la formule suivante :
IC pour la période = Ingéré total pour la période/ (poids total+ poids des morts de la période) - poids total début de période).
L'ingéré par animal a été calculé comme l'indice* poids vif issu des pesées.
L'Index Européen de Performance EBI a été calculé pour la période J0-J28 et pour la période globale J0-J3 selon la formule suivante :
EBI=((10*Poids vif/nb jours) *(1-Taux de mortalité%) / 100))/IC
La qualité de litière a été évaluée à J23 et J35 par 2 observateurs, sur une échelle de 1à 10, (Dersjant-Li et al 2015), 1 étant signe de litière très humide de mauvaise qualité, 10 indique une litière parfaitement sèche et friable.
Les pododermatites ont été déterminées à J23 et J35 en sélectionnant 10 animaux mâles et 10 femelles par parquet, selon une échelle de notation en 5 points de 0 (absence) à 4 (sévères pododermatites) (Welfare Quality, 2009). Le score total a été calculé selon la formule suivante : (nb score 0*0 +nb score 1*1+nb score 2*2+ nb score 3*3 + nb score 4*4) /nb total d'animaux évalués.

1.5 Analyses statistiques

L'analyse statistique des résultats a été réalisée avec le logiciel GenStat de Windows (20th édition). Les aberrants ont été définis par période, comme des observations dont le résidu est plus de 2.5 fois supérieures à l'erreur standard. Si un des paramètres : ingéré, poids vif ou indice de consommation était

aberrant, l'ensemble des données a été éliminé pour cette unité expérimentale. Après élimination des aberrants les données ont été analysées par Anova, avec les modèles suivants :
Y_{ij}= µ+$Bloc_i$+ $traitement_j$+e_{ij}
Ou Y_{ij} = variable, µ=moyenne, $Bloc_i$ =effet bloc (i=1-8), $traitement_j$ = effet traitement (j=1-4), e_{ij}, =erreur résiduelle

Et Y_{ijk}= µ+$Bloc_i$+ SourceMet $_j$+Source Oligo-butyrate $_k$ + interaction $_{jk}$ + e_{ijk}
Ou $Y_{ij\,k}$= variable, µ=moyenne, $Bloc_i$ =effet bloc (i=1-8), j = effet methio (j=1-2), k= Source Oligo-butyrate (k=1,2) interaction jk entre SourceMet et oligo-butyrate, e_{ij}, =erreur résiduelle

Même si l'ANOVA n'avait pas permis de mettre en évidence de différence significative, les traitements ont été alors comparés pour la plus petite différence significative (Ppds) en utilisant le test de Fisher, car il donne une indication de l'écart qu'il devrait y avoir entre deux traitements pour trouver des différences entre eux.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de performance (poids vif, consommation d'aliment, indice de consommation et mortalité) ainsi que le résultat d'index de performance sont présentés au tableau 2.
Les performances ont été similaires quel que soit le traitement et sur l'ensemble des périodes.
Il n'y a pas eu de différences sur la qualité de litière, et aucun des traitements n'a augmenté le risque de pododermatites aux deux périodes de mesures (J23 et J35)
L'analyse factorielle 2x2 n'a montré aucune différence significative entre les groupes DLMet et HMTBa, et OEI-Buty vs CHAM.
La molécule de HMTBa présente des caractéristiques chimiques et un mode d'absorption qui lui confèrent un bénéfice potentiel sur la santé digestive et dans les situations de stress thermique chez les poulets (Knight et al 1994, Gasparino et al 2018). L'utilisation de taux réduits de Zn, Cu, et Mn sous forme organique a montré son efficacité à maintenir les performances des poulets en réduisant l'excrétion et en permettant des améliorations de la santé des pattes et du tube digestif (Chen et al 2016, Manangi et ak 2018, Ren et al 2020). Le butyrate est l'un des principaux métabolites terminaux des bactéries intestinales. Les effets du butyrate sur la santé intestinale ont déjà été décrits en détail dans de nombreux rapports. Une supplémentation en butyrate dans l'alimentation peut influencer de manière bénéfique les performances de croissance, la structure des villosités intestinales mais aussi l'immunité et le contrôle des bactéries pathogènes chez les poulets de chair. (Guilloteau et al. 2010, Canani et al. 2011)
En raison du bénéfice espéré des CHAM sur la santé digestive, le butyrate a été utilisé en combinaison avec les OEI dans cette étude. De plus le traitement CHAM avait des taux de Zn Cu Mn moins élevés que le traitement OEI, ce qui contribue à diminuer les rejets dans l'environnement.
Les poids des poulets à 38j étaient de 2240 à 2260 g selon les traitements, inférieurs de 260-280 g par rapport aux valeurs du standard Ross 308 (2527g, Aviagen 2019). Cette sous performance peut s'expliquer par l'absence de carbohydrase sur un régime à base de blé. Le challenge modéré de santé digestive qui aurait pu être induit par ce type d'aliment a été résolu de manière identique dans les différents traitements sur le plan des litières ou des pattes, ce qui confirme que l'efficacité des CHAM a été au moins équivalente à la combinaison OEI+butyrate sur ce critère.

CONCLUSION

Sur la base de ces résultats, on peut conclure que les performances des poulets ont été similaires dans tous les traitements, sans effet de la source de méthionine ou de l'utilisation de CHAM versus une combinaison OEI + butyrate. L'utilisation d'oligo-éléments inorganiques (OEI) et de butyrate peut être remplacée par une inclusion plus faible de CHAM Zn, Cu et Mn dans les régimes pour poulets de chair sans aucun effet négatif sur les performances.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aviagen, 2019 Broiler performance objectives for Ross 308
Canani R, Costanzo M, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. 2011. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. World J Gastroenterol 17(12):1519–1528
Chen J., Yan F., Wedekind K., Wineman T.. Vasquez-Anon M., Escobar J. 2016 Effect of Chelated cooper on growth performance and meat quality in chickens. Poultry Sci. 95 (E-Suppl.1):105
Dersjant-Li Y.., Van de Belt K. , Van der Klis J.D., Kettunen H., Rinttila T. Awatti A. 2015. Effect of multi-enzymes in combination with a direct fed microbial on performance and welfae parameters in broiles under commercial production settings. J.Appl. Poult.Res. 24:80-90.
Genstat 20th edition, 2019. www.vsni.com

Gasparino E. Del Vescoa A. Jhatlab A. Zancanela V. Grieser D. Silva S., 2018. Effects of methionine hydroxy analogue supplementation on the expression of antioxidant-related genes of actue heat stress exposed broilers. Animal, 12:5,931-939.

Guilloteau P, Martin L, Eeckhaut V, Ducatelle R, Zabielski R, Van Immerseel F., 2010 From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. Nutr Res Rev (2010) 23(2):366–384.

Knight C. Wueling C. Atwell C, Dibner J. 1994. Effect of intermittent periods of high environmental temperature on broiler performance responses to sources of methionine activity. Poultry Science 73; 627-639

Manangi M. Vasquez-Anon M. Richards J., Carter S. Buresh R. Christensen K., 2012. Impact of feeding lower levels of chelated trace minerals versus industry levels of inorganic trace minerals on broiler performance, yield, footpad health and litter mineral concentration. J.Appl.Poult.Res. 21 881-890.

Ren P., Chen J. Wedekind K. Hancock D.Vazquez-Anon M., 2020. Interactive effects of zinc and copper sources and phytase on growth performance, mineral digestibility, bone mineral concentrations, oxidative status, and gut morphology in nursery pigs. Transl. Anim.Sci. 2020 4 784-798.

Suttle N, 2010. The mineral nutrition of livestock. 4th Edition ed. CABI Publishing, New York.

Yadav, S., Jha, R. Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. J Animal Sci Biotechnol 10, 2 (2019).

Tableau 1. Design des groupes expérimentaux

Traitement	**Description**	**Source Méthionine**	**Source Zn, Cu , Mn**	**Butyrate**
1	DL-OEI-Buty	DL-Méthionine	OEI	Oui
2	HMTBa-CHAM	HMTBa	CHAM	Non
3	HMTBa-OEI-Buty	HMTBa	OEI	Oui
4	DL-CHAM	DL-Méthionine	CHAM	Non

DL Methionine 99% : MetAMINO, Evonik
HMTBa (hydroxy analogue de méthionine): ALIMET®, Novus International Inc
OEI premix : Zn0, CuSO4 and MnO : Zn 90-80-70 mg/kg, Cu 10-10-10 mg/kg Mn 120-100-90 mg/kg dans l'aliment démarrage, croissance, finition, respectivement
CHAM premix : MINTREX® Zn Cu et Mn : Zn 50 mg/kg, Cu 10 mg/kg, Mn 50 mg/kg dans toutes les phases.
La contribution de la méthionine contenue dans le prémix a été prise en considération en formulation.
Butyrate de calcium : GBM Performant, Greenvalley International - 500g/ton dans toutes les phases.

Tableau 2. Effet des différents traitements sur les performances de production des poulets sur la période 0-38 jours

Traitement	**Description**	**Poids vif (g)**	**Ingéré (g)**	**Indice de consommation (g/g)**	**Mortalité (%)**	**EBI**
1	DL-OEI-Buty	2275	3641	1,601	2,6	351
2	HMTBa-CHAM	2221	3588	1,616	2,2	354
3	HMTBa-OEI-Buty	2208	3560	1,613	2,4	352
4	DL-CHAM	2205	3564	1,616	2,5	350
Ppds		69	68.7	0,0264	0.81	20,3
P		0.16	0.084	0.57	0.77	0.98
Oligo Buty	CHAM	2252	3576	1,616	2,4	352
	OEI Buty	2281	3600	1,607	2,5	351
Ppds		48,8	48,6	0,0187	0,57	14,3
P		0,24	0,31	0,30	0,64	0,93
Méthionine	DL	2242	3600	1,608	2,6	351
	HMTBa	2216	3576	1,614	2.3	353
Ppds		48,8	48,6	0,0187	0,57	14,3
P		0,29	0,24	0,54	0,37	0,73

EBI : index européen de performance EBI=((10*Poids vif/nb jours) *(1-Taux de mortalité%) / 100))/IC
PPds : plus petite différence significative.

Influence du complexe d'acides aminés de manganèse dans les aliments pondeuses sur l'ultrastructure et les propriétés mécaniques de la coquille

Cibele Torres[1], Leonardo Linares[1], Jing Wang [2]

[1]Zinpro Corporation - 10400 Viking Drive, Suite 240 - code postal 55344,
[2] Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences - Zhongguancun nandajie 12hao - code postal 100081
ctorres@zinpro.com

RÉSUMÉ

Le manganèse (Mn) est un oligo-élément essentiel à la qualité de la coquille. L'objectif de cette étude a été de vérifier si différentes sources de Mn pouvaient influencer la calcification et la qualité de la coquille. 324 pondeuses brunes Hy-line ont été réparties au hasard en 3 traitements alimentaires avec 6 répétitions. De 21 à 46 semaines, toutes les pondeuses ont reçu un aliment à base maïs-soja. Le groupe 1 témoin n'a pas eu de supplémentation en Mn (21,95 mg Mn/kg), le groupe 2 a été supplémenté avec 40 mg/kg de Mn sous forme de sulfate (MNSO4) tandis que le groupe 3 recevait 40 mg/kg de Mn sous forme de complexe d'acides aminés (MnAAC). L'analyse de l'ultrastructure de la coquille d'œuf a été mesurée à 34 et 46 semaines d'âge. Les données ont été analysées en utilisant une ANOVA univariée et PPDS à P<0,05. La production d'œufs a été la plus importante avec la supplémentation en MnAAC suivie par MnSO4 (88,4 ≤ 90,8 ≤ 92,9 %, p=0,016, témoin, MnSO4, MnAAC respectivement). La teneur en acide uronique a augmenté aux deux âges. L'apport de Mn a augmenté dans les membranes coquillières, la teneur en acide uronique (3,72 ≤ 4,06 < 4,67 mg/g, p= 0,007) et en GAGs (2,11 < 2,31 < 2,40 mg/g, p=0,06), dans les groupes Témoin, MnSO4 et MnAAC respectivement, pour les œufs issus des poules à 46 semaines. L'ultrastructure de la coquille a également été affectée, le groupe MnAAC présentant une largeur de cône mamillaire réduite et une épaisseur de couche mamillaire et effective accrue, ce qui a entraîné une plus grande résistance à la force appliquée avant rupture par rapport aux autres traitements (31,2 ≤ 34,3 ≤ 36,94, p= 0,005, Témoin, MnSO4, MnAAC, respectivement, à 46 semaines). L'apport de Mn sous forme MnACC a amélioré la qualité de la coquille et ses propriétés mécaniques en augmentant la teneur en matrice organique dans la coquille calcifiée et la membrane, ce qui a amélioré l'ultrastructure de la coquille et sa résistance à la rupture.

ABSTRACT

Influence of manganese amino acid complex in layer diets on shell organic matrix composition, eggshell ultrastructure and mechanical property

Manganese (Mn) is a critical trace mineral for eggshell quality. This study investigated if different sources of Mn supplemented in the laying diet would influence calcification and eggshell quality. A total of 324 Hy-line Brown layers were randomly assigned into 3 dietary treatments with 6 replicates, each contained 18 birds. From 21 to 46 weeks, layers were fed a Control corn-soybean basal diet (21,95 mg Mn/kg) or the basal diet supplemented with 40 mg/kg Mn as sulfate (MNSO4) or 40 mg/kg Mn as amino acid complexed (MnAAC). Eggshell ultrastructure analysis was measured at 34 and 46 weeks of age. Eggshell breaking strength were evaluated at the end of every 4 weeks. Data were analysed using a one-way ANOVA and LSD was employed to compare the means at P<0.05 significance. Egg production was greatest with MnAAC supplementation followed by MnSO4 (88.4 ≤ 90.8 ≤ 92.9 %, p=0.016 Control, MnSO4, MnAAC respectively). Eggshell uric acid content was increased at both ages whereas. Mn supplementation increased the content of uric acid (3.72 ≤ 4.06 < 4.67 mg/g, p= 0.007, Control, MnSO4, MnAAC respectively) and GAGs (2.11 < 2.31 < 2.40 mg/g, p=0.06, Control, MnSO4, MnAAC respectively) in the eggshell membrane of eggs at 46 weeks of age. At this time, the eggshells of MnAAC fed group had decreased mammillary cone width and improved both effective and mammillary layer thickness resulting in greatest resistance to break compared with other treatments (31.7 ≤ 34.3 ≤ 36.94, p= 0.005, Control MnSO4, MnAAC, respectively). Dietary MnACC improved eggshell quality and mechanical property by increasing organic matrix content in the calcified eggshell and membrane resulting in improved eggshell ultrastructure and breaking strength.

INTRODUCTION

Le manganèse (Mn) est un nutriment essentiel qui joue un rôle déterminant dans les processus homéostatiques normaux, notamment dans la formation du tissu conjonctif des os et de la coquille des œufs. La coquille d'œuf de poule contient 1,6% d'eau, environ 3,5% de matrice organique incluant les membranes de la coquille et 95% de minéraux inorganiques (Gautron et al, 2021). Environ 98,4 % de la partie inorganique est constituée de carbonate de calcium. La matrice organique est composée de centaines de protéines de coquille d'œuf ; collagènes, protéoglycanes et glycosaminoglycanes (GAGs) qui interagissent avec la matrice inorganique de carbonate de calcium en contrôlant sa formation, son organisation structurelle et sa texture. Ces interactions déterminent les propriétés mécaniques de la coquille d'œuf. Les membranes de la coquille d'œuf jouent un rôle clé dans la calcification initiale de la coquille. Ces membranes coquillières sont synthétisées et déposées lorsque L'œuf en formation atteint le segment isthmique de l'oviducte. Puis, dans l'heure qui suit, l'œuf en formation sera baigné de fluides riches en protéines, en collagène, en protéines de la matrice de la coquille d'œuf riches en cystéine et en GAGs qui sont également des composants organiques essentiels contenus dans les membranes et la coquille d'œuf calcifiée. Les GAGs sulfatés peuvent s'attacher aux protéines centrales pour former des protéoglycanes. Les GAGs dans les membranes de la coquille ont une corrélation positive élevée avec la résistance de la coquille d'œuf (Ha et al., 2007). Young et al, 2007 ont indiqué que la résistance à la rupture des coquilles d'œufs était directement liée à la teneur en sulfate de kératane des membranes de la coquille ; le sulfate de kératane est considéré comme étant un GAG majeur.

La supplémentation en manganèse dans les régimes alimentaires des pondeuses a des effets positifs sur la formation de la coquille d'œuf et son ultrastructure, ce qui entraîne une amélioration de la qualité de la coquille (Xiao et al., 2014, Zhang et al., 2017). Le manganèse est vital pour le métabolisme des GAGs et de l'acide uronique (UA), qui sont des composants clés de la matrice organique de la coquille d'œuf. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet de la supplémentation et de la source de Mn sur la qualité de la coquille des œufs.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et régimes alimentaires

Un total de 324 pondeuses brunes Hy-line ont été réparties au hasard en 3 traitements alimentaires avec 6 répétitions, chacune contenant 18 oiseaux. Ces poules ont été nourries avec un régime à base de maïs et de soja (21,95 mg Mn/kg) pendant deux semaines avant le début de l'étude. De 21 à 46 semaines, les pondeuses ont été nourries avec le régime témoin ou le régime témoin supplémenté avec 40 mg/kg de Mn sous forme de sulfate (MnSO4) ou 40 mg/kg de Mn sous forme de complexe d'acides aminés (MnAAC, Zinpro ProPath® Mn 15%).

1.2. Qualité et ultrastructure de la coquille d'œuf

Les œufs étaient ramassés deux fois par jour ; le nombre d'œufs et le poids total des œufs ont été regroupés (pooled) pour calculer le poids moyen des œufs chaque semaine. Les aliments restants ont été pesés toutes les 4 semaines ; la consommation d'aliments et la quantité par œuf ont été calculés. A la fin de chaque période de 4 semaines, 6 œufs par répétition ont été collectés pour mesurer la force de la coquille (résistance à la rupture). L'analyse de l'ultrastructure de la coquille d'œuf, la teneur en calcium (Ca), en Mn, en GAGs et en UA ont été mesurées à 34 et 46 semaines d'âge.

Les échantillons de coquilles calcifiées ont été examinés au microscope électronique à balayage. L'épaisseur de la couche mamillaire, la largeur des cônes mamillaires et l'épaisseur effective de la coquille ont été mesurées et calculées avec la règle du microscope électronique à balayage, épaisseur effective = épaisseur totale - épaisseur de la couche mamillaire. L'épaisseur de la couche mamillaire et la largeur des cônes mamillaires ont été calculées comme la moyenne de 5 cônes mamillaires par photographie électronique à balayage. Les données ont été analysées par analyse de variance univariée et le test de Différence Significative Minimale (LSD) a été employé pour comparer les moyennes quand les différences étaient significatives à $p<0.05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Cette étude a porté sur l'effet d'une supplémentation alimentaire en Mn sur la qualité et l'ultrastructure de la coquille des œufs, ainsi que sur le contenu en GAG et en acide uronique. La supplémentation en manganèse a augmenté la production d'œufs, cet effet était plus important avec 40 MnAA (Tableau 1). De même, une supplémentation de 40 ppm de Mn a amélioré la résistance à la rupture de la coquille des œufs par rapport aux œufs de poules non supplémentées ; cet effet était le plus important dans le groupe MnAAC (Figure 1).

La supplémentation en Mn n'a pas affecté la teneur en Ca de la coquille, mais a augmenté sa teneur en Mn, les valeurs les plus élevées étant celles du groupe MnSO4. Une supplémentation de 40 ppm de MnSO4 ou de MnAAC n'a pas affecté la teneur en GAGs de la coquille à 34 semaines ; cependant la teneur en URA a augmenté avec la supplémentation en MnAAC à 34 et 46 semaines d'âge (Tableau 2). Le manganèse complexé à un acide aminé a eu tendance à augmenter la teneur en GAG et en URA dans les membranes des coquilles d'œufs de poules âgées de 46 semaines. Xiao et al, (2015) ont rapporté que la supplémentation en Mn augmentait le GAG et l'URA dans la membrane

de la coquille d'œuf et augmentait la résistance à la rupture et l'épaisseur des œufs de poules de 50-62 semaines nourries avec 100 ppm de MnSO4 par rapport à celles nourries avec 25 ppm de MnSO4 ou un régime non supplémenté en Mn.
Le manganèse joue un rôle important dans la formation de la coquille d'œuf. Xiao et al, (2014) ont rapporté que la supplémentation en Mn a entraîné une diminution de la taille des noyaux mamillaires et moins de fissures sur la surface externe, ce qui résulte de l'augmentation des contenus en GAGs et en acide uronique dans les membranes de la coquille. Young et al. (2007) ont signalé une forte corrélation entre la résistance à la rupture de la coquille d'œuf et les GAG dans les membranes coquillières. Dans l'étude actuelle, l'apport de MnACC a amélioré les propriétés mécaniques de la coquille d'œuf et ce résultat pourrait être dû à la modification du contenu de la matrice organique et de la structure de la coquille. L'ultrastructure de la coquille d'œuf est composée de deux membranes, la couche mamillaire et la couche effective (comprenant la couche palissadique, la couche de cristaux verticaux et la cuticule). Les coquilles dont l'épaisseur effective est plus grande, l'épaisseur mamillaire plus faible et la largeur du bouton mamillaire plus faible présentent une résistance accrue à la rupture (Rodriguez-Navarro et al., 2002). Les photos prises au microscope électronique à balayage ont montré que les poules non supplémentées en Mn pondaient des œufs dont la structure de la coquille était différente de celle du groupe ayant reçu du Mn. Le groupe témoin non supplémenté avait une couche mamillaire plus grande et différemment disposée. La couche mamillaire était 10,6% plus épaisse et 11,72% plus large dans le groupe témoin par rapport au groupe 40 Mn AAC ; les poules supplémentées avec MnSO4 avaient des valeurs intermédiaires et non significativement différents des autres traitements (Tableau 3). De même, dans le groupe 40 MnAAC, l'épaisseur de la couche effective a augmenté ainsi que le ratio par rapport aux autres traitements ; l'épaisseur totale n'a pas été affectée par la supplémentation en Mn. Les résultats rapportés dans cette étude sont en accord avec les études précédentes qui ont étudié l'effet de la supplémentation et de la source de Mn sur la qualité et l'ultrastructure de la coquille des œufs (Xiao et al, 2014, Xiao et al, 2015, Zang et al, 2017).

CONCLUSION

La supplémentation des aliments des pondeuses avec 40 ppm de Mn a amélioré la qualité des coquilles par rapport aux poules non supplémentées. La supplémentation des régimes avec 40 ppm de Mn provenant de MnACC a augmenté la teneur en matrice organique dans la coquille, a favorisé une ultrastructure de qualité supérieure et a augmenté la résistance à la rupture.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Gautron J. 2021. BMC Molec Cell Biology (22), 11
Rodriguez-Navarro. 2002. Br. Poult. Sci. (43), 395–403.
Ha, Y.W 2007. Comparative Biochemistry and Physiology (147), 1109-1115
Xiao J.F. 2015. Poult Sci (94),1871–1878
Xiao J.F.2014. Poult Sci (93), 380–388
Zhang, Y.N. 2017. Poult Sci (96), 2184-2193

Tableau 1. Effets de la supplémentation en Mn sur la production d'œufs de poules pondeuses Hyline Brown

Traitement	Age des poules pondeuses (de 23 à 46 semaines)				
	Production d'oeufs (%)	Poids oeuf (g)	Masse oeuf (g)	Ingéré alimentaire (g/j)	I.C.
0 - Témoin	88.41[b]	64.35	56.23	117.18	2.06[a]
40 - $MnSO_4$	90.78[ab]	63.18	56.67	116.03	2.02[ab]
40 - MnAAC	92.91[a]	63.67	56.91	115.72	1.96[b]
SEM	0.41	0.13	0.37	0.36	0.01
P value	0.016	0.056	0.058	0.071	0.037

Les moyennes dans une colonne sans exposant commun diffèrent significativement (P < 0,05).

Tableau 2. Effets d'une supplémentation en Mn sur la teneur en glycosaminoglycanes (GAGs) et en acide uronique (URA) dans les coquilles d'œufs de poules pondeuses Hyline Brown à 34 et 46 semaines d'âge

Traitement	Coquille d'œuf calcifiée				Membranes coquillières			
	GAGs		URA		GAGs		URA	
	34 sem	46 sem	34 sem	46 sem	34 sem	46 sem	34 sem	46 sem
0 - Témoin	0.116	0.102	0.111[c]	0.112[b]	2.09	2.11	3.28[b]	3.72[b]
40 - $MnSO_4$	0.117	0.108	0.138[b]	0.138[a]	2.23	2.31	4.24[a]	4.06[b]
40 - MnAAC	0.120	0.107	0.161[a]	0.151[a]	2.30	2.40	4.43[a]	4.67[a]
SEM	0.003	0.002	0.006	0.005	0.05	0.05	0.16	0.14
P value	0.890	0.435	0.001	0.002	0.188	0.067	0.002	0.007

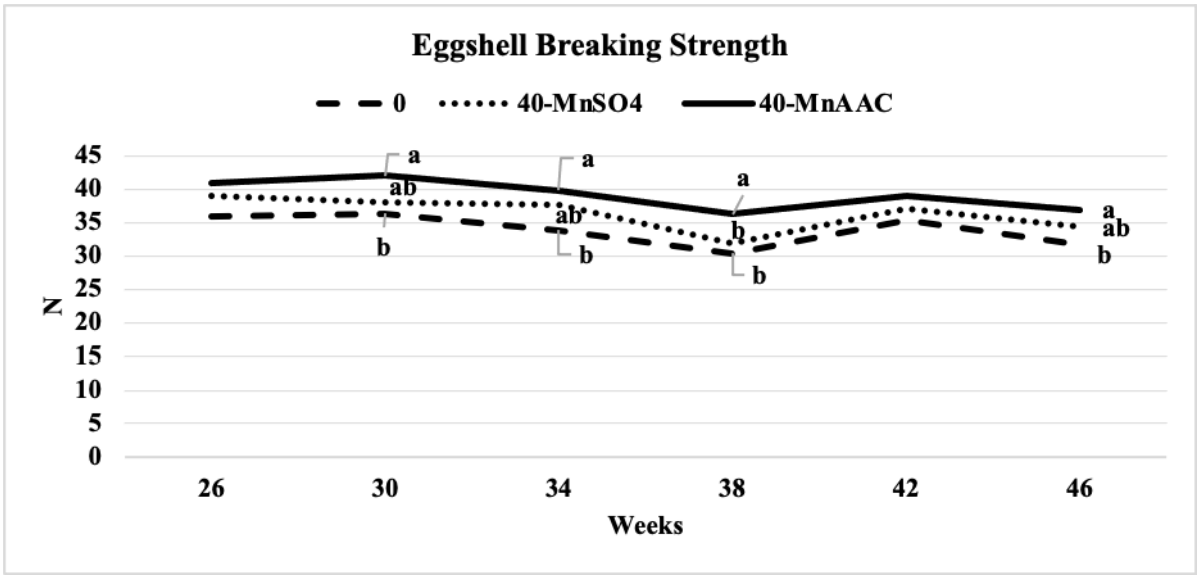
Les moyennes dans une colonne sans exposant commun diffèrent significativement (P < 0,05).

Tableau 3. Effets d'une supplémentation en Mn sur l'ultrastructure de la coquille des œufs de poules pondeuses Hyline Brown à 46 semaines d'âge

Traitement	Largeur du cône mamillaire (µm)	Épaisseur effective de la couche (µm)	Épaisseur de la couche mamillaire (µm)	Épaisseur totale (µm)	Rapport d'épaisseur de la couche effective : couche mamillaire
0 - Témoin	88.42[a]	265.73[b]	70.52[a]	336.25	3.80[b]
40 - $MnSO_4$	82.17[ab]	266.65[b]	64.54[ab]	331.19	4.14[b]
40 - MnAAC	79.04[b]	288.64[a]	62.25[b]	350.89	4.66[a]
SEM	1.48	3.93	1.43	30.98	0.12
P value	0.020	0.015	0.040	0.724	0.003

Les moyennes dans une colonne sans exposant commun diffèrent significativement (P < 0,05).

Figure 1. Effets d'une supplémentation en Mn sur la résistance à la rupture de la coquille d'œuf (N) de poules pondeuses Hyline Brown



VITAMINE C ET ALTERNATIVE NATURELLE, EFFET SUR LES PERFORMANCES DU POULET DE CHAIR DURANT UN STRESS THERMIQUE

J.F. Le Roux[a], A. Atkinson[a], J. Gonzalez[a], et C. Alleno[b]

[a]NUPROXA SWITZERLAND – La Romanèche 2C - 1163 ETOY, Suisse
[b]ZOOTESTS, 5 rue Gabriel Calloet Kerbrat, 22440 Ploufragan,
jf.leroux@nuproxa.ch

RÉSUMÉ

La vitamine C (VC) est un nutriment non essentiel pour la volaille, mais son activité antioxydante biologique peut être bénéfique dans des conditions de stress thermique. La sensibilité à l'oxydation de la VC synthétique dans l'aliment nécessite l'utilisation de formes protégées plus coûteuses. Des alternatives naturelles à base de plantes riches en VC, composées *d'Ocimum Sanctum, Withania somnifera* et *Emblica officinalis*, peuvent avoir un intérêt en raison de leur activité antioxydante et de leur stabilité naturelle dans l'aliment. Le but de cette expérience est de comparer l'impact de l'ester d'acide phosphorique de la VC et d'une alternative naturelle sur les performances zootechniques des poulets de chair dans des conditions de stress thermique.

L'expérience est menée avec 240 poulets de chair répartis en 3 groupes de 8 répétitions de 10 mâles Ross 308 du jour 21 au jour 42 en condition de stress thermique (température moyenne maitrisée 32°C). Les traitements sont : T1 : Contrôle Négatif (sans VC) ; T2 : 200 ppm d'ester phosphorique de VC, T3 : 200 ppm du mélange de plantes. La mortalité et le poids individuel sont mesurés aux jours 21, 32, 42. La consommation alimentaire et l'indice de consommation (IC) sont mesurés pour les périodes 21-32 et 32-42 jours.

Des analyses de sang sont effectuées au jour 42 afin de mesurer l'état oxydatif. Les effets fixes sont testés par ANOVA, à l'aide du logiciel SAS. Aucune différence statistique significative ($p>0.05$) n'a pu être mise en évidence sur les performances zootechniques probablement en raison du nombre limité d'animaux. Ainsi les mortalités sont de 15.7%, 8.8% et 7.5%, les IC de 2.09, 1.93 et 1.99, respectivement pour les groupes T1, T2 et T3. Des tendances similaires non significatives sur la teneur en VC dans le plasma ($p > 0.05$) dans le groupe T1 7.1 vs T2 11.4 et T3 10.1 mg/l ainsi que pour les statuts antioxydants hydrophile et lipophile sont observées.

L'utilisation de produits à base de plantes riches en VC naturelle et autres molécules antioxydantes semble être une bonne alternative à la VC synthétique.

ABSTRACT

Vitamin C and natural alternative, effect on broiler performance during heat stress.

Vitamin C (VC) is a nonessential nutrient for poultry, but its biological antioxidant activity may be beneficial under heat stress conditions. The susceptibility to oxidation of synthetic VC in feed requires the use of more expensive protected forms. Natural plant-based alternatives rich in VC, composed of *Ocimum Sanctum, Withania somnifera* and *Emblica officinalis* may be of interest due to their antioxidant activity and their natural stability in the feed. The aim of this experiment is to compare the impact of the phosphoric acid ester of vitamin C and the natural alternative on the zootechnical performance of broilers under heat stress conditions.

The experiment was carried out with 240 broilers divided into 3 groups of 8 repetitions of 10 Ross 308 males from day 21 to day 42 under stress conditions (controlled average temperature 32°C). The treatments are: T1: Negative Control; T2: 200 ppm of VC phosphoric ester, T3: 200 ppm of the polyherbal mixture. Mortality and individual weight are measured on days 21, 32, 42. Food consumption and feed conversion rate (FCR) are measured for periods 21-32 and 32-42 days. Blood tests are performed on day 42 in order to measure the oxidative status. The fixed effects are tested by ANOVA, using the software SAS. No statistically significant difference ($p> 0.05$) could be demonstrated on zootechnical performance, probably due to the limited number of animals. Thus, the mortalities are 15.7%, 8.8% and 7.5%, the FCRs of 2.09, 1.93 and 1.99, respectively for the groups T1, T2 and T3. Similar insignificant trends on the VC content in the plasma ($p> 0.05$) in the group T1 7.1 vs T3 10.1 and T2 11.4 mg / l as well as for the hydrophilic and lipophilic antioxidant statuses are observed. Using herbal products rich in natural VC and other antioxidant molecules appears to be a suitable alternative to synthetic VC.

INTRODUCTION

Chez le poulet en croissance, le stress thermique entraine une réduction de la croissance et une dégradation de l'indice de consommation. L'utilisation de vitamine C (VC) permet de compenser l'impact négatif du stress thermique (Al-Masad, 2012 ; Vathana et al, 2012). Des plantes telles que *Ocimum Sanctum, Withania somnifera* et *Emblica officinalis* sont également étudiées pour leur effet positif dans des conditions de stress thermique (Vasanthakumar et al, 2014 ; Mandal et al, 2017 ; Swathi B et al, 2015).Cette étude a pour objectif de valider l'utilisation d'un mélange de plante composé *d'Ocimum Sanctum, Withania somnifera* et *Emblica officinalis*, comme substitut à la VC en analysant leurs effets sur les performances zootechniques de poulets de chair dans des conditions de stress thermique, ainsi que sur certains paramètres plasmatiques.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

240 poulets mâles ROSS 308 en provenance d'un élevage commercial ont été transportés à 21 jours dans une unité dédiée. Ils ont été répartis de façon homogène en 3 groupes de 80 animaux, divisés en 8 répétitions de 10 animaux.

1.1. Aliments

Les poulets reçoivent un aliment unique de type croissance/finition sur l'ensemble de la période 21-42 jours (18.2% protéine, 5.1% matières grasses, énergie métabolisable 3100Kcal).
L'aliment T1 est l'aliment témoin, il n'est pas supplémenté en VC. L'aliment T2 est supplémenté par 200 ppm de VC apportée sous forme d'ester phosphorique de VC (soit 570ppm d'ester titrant 35% VC). L'aliment T3 est supplémenté par 200ppm de C-Power® (Nuprox Switzerland), composé d'un mélange des plantes *Ocimum Sanctum, Withania somnifera* et *Emblica officinalis*. L'eau et l'aliment sont distribués à volonté.

1.1. Conditions d'élevage

Le bâtiment est chauffé de façon à générer un stress thermique. La température moyenne pendant tout l'essai est de 32°C environ.
La densité est de 10 animaux par mètre carré.

1.1. Mesures et analyses statistiques

La mortalité a été enregistrée quotidiennement sur toute la période d'essai. Les animaux morts sont pesés.
Les poids vifs individuels sont mesurés à 21, 32 et 42 jours. Les consommations d'aliments sont mesurées par cage pour les périodes 21-32 et 32-42 jours.
L'indice de consommation est calculé par case en tenant compte du gain de poids des animaux vivants et morts.
A 42 jours des prises de sang sont effectuées sur 4 animaux par cage sur 4 des 8 cages de chaque groupe pour mesurer la quantité de vitamine C circulante, ainsi que les capacités antioxydantes du plasma.
Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS (v7.1, Inst. Inc. Cary, NC ; procédure GLM). Pour les poids vifs, les gains des poids et les indices de consommation, l'analyse de variance des données collectives avec effet fixe du traitement est réalisée. La mortalité est analysée par le test du Khi deux. Un risque de 5% est choisi pour l'étude statistique.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Comme le montre le tableau 1, aucune différence significative n'a été observée pour la mortalité entre les groupes ($p>0.05$), la mortalité du groupe T1 est de 15.7%, et pour les groupes T2 et T3 de 7.5% et 8.8% respectivement.

Le poids moyen des animaux à 21 jours est de 960g. Il n'y a pas de différences statistiques entre les groupes pour les gains de poids (tableau 2 ; $p>0.05$).
Sur la période 32-42 jours, le GMQ pour le groupe T1 est de 68.8g et pour les groupes T2 et T3 de 82.1 et 80.8g respectivement.

Les indices de consommation ne sont pas statistiquement différents.
Sur la période 21-32 j, les performances d'indice de consommation (tableau 3) sont pour le groupe T1 de 2.74 et pour les groupes T2 et T3 de 2.20 et 2.30 respectivement.
Sur l'ensemble de la période 21-42 j, les performances d'indice de consommation (tableau 3) sont pour le groupe T1 de 2.09 et pour les groupes T2 et T3 de 1.93 et 1.99 respectivement.

Les capacités antioxydantes hydrophiles et lipophiles ne sont pas significativement différentes entre les groupes. (Tableau 4).
Il n'y a pas non plus de différence statistique sur les teneurs plasmatiques en VC. (Tableau 4).
L'équipe de Varaprasad Reddy et al, 2014 ont mesuré un effet significatif de la supplémentation en VC ainsi que d'*Ocimum sanctum* sur la teneur en MDA plasmatique, confirmant la tendance observée sur l'augmentation des capacités antioxydantes observées dans cet essai.

CONCLUSION

Pour compenser les effets délétères d'un stress thermique, l'utilisation de vitamine C synthétique est une solution couramment utilisée.

L'utilisation d'une alternative d'origine naturelle comme un mélange de plantes, *Ocimum Sanctum, Withania somnifera* et *Emblica officinalis* a également permis d'obtenir des niveaux de performance proche de ceux permis par la vitamine C synthétique.

Nos résultats confirment donc les observations rapportées dans la bibliographie concernant l'intérêt dans des conditions de stress thermique.de la VC ou de certaines alternatives naturelles utilisées dans les pays où ces plantes sont présentes naturellement.

Ainsi des plantes riches en molécules antioxydantes et autres métabolites secondaires contenus dans leur matrice végétale naturelle pourraient être valorisées pour leur apport nutritionnel spécifique. Elles permettraient d'améliorer les performances des animaux, ainsi que leur bien-être, en diminuant les effets des différents stress inhérents aux conditions d'élevage industriel, tout en réduisant l'utilisation de molécules synthétiques.

D'autres expérimentations dans des conditions de stress d'élevage (stress thermique, fortes densité, …) devraient permettre de confirmer ces hypothèses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mandal A.B., Kulkarni R., Rokade J.J., Bhanja S.K., Singh R., 2017, Journal of Animal Research 7(2):233

Swathi B., Nagalakshmi D., Reddy A., 2015, journal of poultry science and technology, July-septembre 2015, Vol 3, Issue 3, P 36-40

Varaprasad Reddy L.S.S, Leela V., Sudhakara Reddy B., Ananda Reddy P., 2015, Int J Vet Health Sci Res (02). 21-23

Vasanthakumar P., Pangayarselvi B., Sasikumar P., Chandrasekaran D., Doraisamy K.A., Purushothaman M.R., 2014, Indian Journal of Animal Research Volume 49 Issue 3

Vathana S., Kang K., Loan C.P., Thingaard J.D., Ter Meulen U., 2002; In Conference on international agricultural research for development, October 9-11

Tableau 1 : Mortalité

	Groupe			P-value Lot
	T1	T2	T3	
Mortalité 21-42j	15.7%	7.5%	8.8%	P=0.216

Tableau 2 : Gain de poids

	Groupe			P-value Groupe
	T1	T2	T3	
GMQ[1] g/j 21-32j	73.3 +/- 5.6	73.8 +/- 5.5	72.8 +/-5.7	P=0.881
GMQ[1] g/j 32-42j	68.8 +/-24.3	82.1 +/-16.6	80.8 +/-16.7	P=0.384
GMQ[1] g/j 21-42j	71.2 +/-14.3	77.2 +/-9.4	75.5 +/-9.9	P=0.613

[1] *Abréviations: GMQ, gain de poids quotidien*

Tableau 3 : Indice de consommation

	Groupe			P-value Lot
	T1	T2	T3	
IC[1] 21-32j	1.81 +/-0.11	1.74 +/-0.10	1.77 +/-0.07	P=0.498
IC[1] 32-42j	2.74 +/-0.93	2.20 +/-0.39	2.30 +/-0.45	P=0.305
IC[1] 21-42j	2.09 +/-0.27	1.93 +/-0.16	1.99 +/-0.16	P=0.406

[1] *Abréviations: IC, Indice de consommation*

Tableau 4 : Analyses plasmatiques

	Groupe		
	T1	T2	T3
Vitamine C mg/l	7.1	11.4	10.1
CATH[1] µmol EQ Trol	467.7	588	541.2
CATL[1] µmol EQ Trol	103.2	108.7	129.2

[1] *Abréviations:*
CATH : Capacité antioxydante totale hydrophile,
CATL Capacité antioxydante totale lipophile

STRATEGIES NUTRITIONNELLES POUR LE MAINTIEN DES PERFORMANCES DU POULET LABEL EN CONDITIONS ESTIVALES

Rochon Fanny[1], Laure Bignon[2], Margot Lamarque[1], Olivier Gestin[2], Skiba Fabien[1]

[1]Nutricia – Maïsadour - Route de Saint-Sever 40280 HAUT-MAUCO, [2]Wisium Route de Talhouët, 56250 Saint-Nolff, France

rochon@maisadour.com

RESUME :

L'étude de la bibliographie sur différentes stratégies nutritionnelles a montré des résultats contradictoires sur l'approche alimentaire à mettre en œuvre lors de coups de chaleur. L'objectif de cet essai était de tester différentes stratégies nutritionnelles pour maintenir les performances technico-économiques durant la période estivale, chez le poulet label. Un lot de 960 poulets (50% mâles, 50% femelles), de souche S757-NK a été mis en place à la station NUTRICIA (Landes) durant l'été. Les animaux ont été répartis dans 24 cases de 40 individus. Pour chaque traitement, répété 6 fois, mâles et femelles ont été séparés en trois cases distinctes. Les poulets ont eu accès à un parcours extérieur à partir de 42 jours. Les animaux ont été alimentés avec un plan en trois phases (0-28 ; 29-51; 52-77 jours) selon quatre programmes alimentaires différents (démarrage commun jusqu'à 28 jours) : aliment témoin (T) vs enrichi en protéine (Prot+; +1 point de protéine ; iso-lys dig) vs enrichi en énergie (E+; +100 kcal) vs aliment concentré en énergie et protéine (Concentré; +1 point de protéine +100 kcal; +0,1% lys dig).

Les animaux ont été pesés, la consommation enregistrée et les mortalités relevées par parquet, à chaque transition alimentaire. Des mesures individuelles de rendement filet et cuisse ont été réalisées à l'abattage sur 80 animaux par traitement. Sur tous les critères, aucune interaction aliment x sexe n'a été mise en évidence. Les mâles ont eu de meilleures performances ($p<0.05$) que les femelles (GMQ 38.2g vs 27,1g; IC 2,67 vs 2,97 sur la période 28-76 jours), et ont obtenu significativement un rendement filet plus bas (20.3% vs 22.5%) et un rendement cuisse plus élevé (37,1% vs 35,3%) que les femelles. Le traitement Concentré a permis d'obtenir l'IC le plus faible comparativement au témoin dont l'IC était le plus élevé, les autres régimes obtenant des indices intermédiaires (Concentré 2,75<Prot+ 2,79<E+ 2,85<T 2,89). Les régimes Prot+ et Concentré génèrent une augmentation respective de 6% et 3% du coût alimentaire par rapport à T, sans différence significative sur la marge sur coût alimentaire, permettant d'analyser l'efficacité technico-économique des différentes options retenues. Il conviendra donc d'évaluer l'intérêt des différentes stratégies nutritionnelles au regard du modèle économique en place dans l'organisation de production.

ABSTRACT:

Nutritional Strategies to maintain label broiler chickens performance during summer period

Literature review showed conflicting results on the dietary approach during heat stroke. The objective of this trial was to test how different nutritional strategies could help to maintain technical and economic performance in label production, during the summer period. 960 S757NK (50% males, 50% females) were devidedinto 24 pens of 40 individuals at the experimental farm NUTRICIA during the summer (Landes-France). For each treatment, repeated 6 times, males and females were separated into three distinct pens. The birds had outdoor access from 42 days of age. The animals were fed with a three-phase plan (0-28; 29-51; 52-77 days) according to four different nutritional strategies from 29 days to 77 days (common starter feed up to 28 days): control (T) vs enriched in protein (Prot +; +1 point of protein; iso-dig lys) vs enriched in energy (E +; +100 kcal) vs feed concentrated in energy and protein (Concentrate; +1 point of protein +100 kcal; + 0.1% dig lys). The animals were weighed, and feed intake and mortality were recorded for each pen at each feed transition. Breast and thigh yields were measured individually at slaughter on 80 birds per treatment. On all criteria, no feed-by-sex interaction was demonstrated. Males performed better ($p <0.05$) than females (ADG 38.2g vs. 27.1g; FCR 2.67 vs. 2.97 over 28-76 days period). Males significantly obtained a lower breast yield (20.3 vs 22.5) and a higher thigh yield (37.1 vs 35.3) than the females. The lowest FCR was observed with the Concentrate and the highest with T whereas intermediate FCR were obtained with the other treatments (Concentrate 2.75 <Prot + 2.79 <E + 2.85 <T 2.89; $p <0,05$). The Prot + and the Concentrate diets showed respectively an increase of 6% and 3% of the feed cost compared with T, without any significant difference in the feed cost margin (technical and economic efficiency analysis). It will therefore be necessary to assess the interest of these different nutritional strategies with regards to the economic model in place in the production.

INTRODUCTION

Dans un contexte global de changement climatique, on observe une augmentation des températures et des pics de chaleur, plus particulièrement durant l'été.
Les poulets de chair label à croissance lente, par leur accès à un parcours extérieur à compter de 42 jours, sont plus enclins à subir les conséquences de ce stress thermique estival. Bouvarel et Franck (1994) ont estimé que la mortalité et les baisses des résultats technico-économiques dues à la chaleur engendrent annuellement une perte pour la filière avicole (éleveurs et abattoirs notamment) d'environ 6 millions d'euros.
Les organismes de production sont donc très attentifs à ces baisses de performances estivales. En effet, selon Syafwan et al. (2012), face à la chaleur, les poulets de chair, animaux homéothermes, mettent en place des mécanismes de compensation comme la baisse de l'ingéré global pour maintenir leur température constante. Cette diminution engendre une baisse parallèle des ingérés protéique et énergétique ainsi qu'une diminution du gain de poids.

Une revue des études réalisées sur l'adaptation alimentaire lors de coups de chaleur a permis de montrer qu'à 32°C, on observe une augmentation de l'extra-chaleur des volailles, due, notamment, à une réduction de la dépense énergétique des animaux plus limitée que celle engendrée par la baisse de leur ingéré énergétique (Tesseraud et Temim, 1999). Par ailleurs, Boudouma et al. (2013) ont mis en évidence que la digestibilité de la matière grasse n'était pas impactée lors d'un stress thermique, contrairement à la digestibilité de l'amidon et de la protéine. Une approche alimentaire visant à l'augmentation de l'ingéré énergétique par le biais de la matière grasse semble alors émerger.
En outre, Tesseraud et al. (1997) ont montré qu'une augmentation du taux de protéine (+5 points) pendant un stress thermique permettait une amélioration significative du gain de poids (+15%). Wang et al., (2014) ont par ailleurs mis en exergue l'importance de la qualité de cette protéine et des apports en certains acides aminés secondaires comme l'arginine.

Le travail présenté ci-dessous avait donc pour objet de tester quatre stratégies nutritionnelles de concentrations énergétique et/ou protéique différentes pour maintenir des résultats techniques et les rendements abattoirs associés acceptables, durant les périodes de fortes chaleurs. Une analyse économique a, en outre, été réalisée.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux :

Des poussins à croissance lente (n=960 poussins 50% mâles 50% femelles) de type label (souche S757NK, Hubbard, France) ont été mis en place à la station NUTRICIA (Landes) dans 24 cases de 6 m², comptant 40 individus par case. Pour chaque traitement, répété 6 fois, mâles et femelles ont été séparés en 3 cases distinctes. Ainsi, 8 lots de 120 volailles ont été constitués. Les animaux avaient un libre accès à l'eau et à l'aliment. Les poulets ont été élevés sur sol béton avec une litière de type « copeaux » et ont eu accès à un parcours extérieur enherbé spécifique à chaque case à partir de 42 jours d'âge.

1.2. Conditions d'élevage :

La température de 28°C les trois premiers jours a été diminuée graduellement jusqu'à la 4ème semaine pour atteindre 20°C, puis maintenue jusqu'à l'accès au parcours extérieur, à compter de 42 jours. L'essai s'est déroulé durant la période estivale, de mai à août 2020. Les relevés de température de la station " Météociel Mont-de Marsan (40000)" (Tableau 1) ont montré des températures élevées dès le mois de mai, avec plusieurs pics de chaleur, et plus particulièrement durant le dernier mois de vie (13 jours de températures maximales supérieures à 30°C). Ces éléments valident la cohérence des conditions de températures vécues par les animaux durant cet essai avec des conditions classiques estivales. En effet, la synthèse des normales de températures Météociel de 1985 à 2010 sur Mont de Marsan indique des moyennes respectives de 15.9°C, 19.2°C et 21.4°C sur les mois de mai, juin et juillet.

Tableau 1 : Relevés météorologiques Météociel Mont de Marsan été 2020

	Min (°C)	*Max (°C)*	*Moy (°C)*	*Jours de forte chaleur (Tmax>=30°C)*
Mai 2020	6,3	30,7	18,1	5
Juin 2020	7,8	35,2	18,5	2
Juillet 2020	9,1	39,4	22,1	13

1.3. Programmes alimentaires, Aliments :

L'essai comportait 4 programmes alimentaires constitués chacun de 3 aliments. L'aliment démarrage était commun à tous les traitements jusqu'à 28 jours d'âge. Les caractéristiques nutritionnelles des aliments croissance (29-51 jours) et finition (52-77 jours) différaient par leur concentration en protéine et énergie (cf. Tableau 2).
L'aliment témoin (T) de référence correspond à un aliment classique du commerce.
L'aliment Prot+ est supérieur en protéine (+1 point; iso-énergétique, iso-lysine), principalement par un apport de tourteau de soja (+6.6 points). Les ratios à la lysine digestible des acides aminés soufrés et thréonine ont été maintenus afin de mesurer l'effet des acides aminés peu/pas disponibles sous forme de synthèse, et amenés par la hausse de protéine. Les

autres acides aminés secondaires ont donc été laissés libres.
L'aliment E+ a été enrichi en énergie par l'apport de 1.5% d'huile végétale de soja (EM +100kcal, iso-protéique, iso-lysine). Cette forme d'apport a été privilégiée pour limiter l'impact de l'augmentation énergétique sur la génération d'extra-chaleur supplémentaire.
Enfin, le dernier régime « Concentré » est plus haut en protéine et énergie (Protéine +1 point ; EM +100kcal ; +0,1 point lys.dig.), l'énergie complémentaire étant apportée à fois par de l'huile végétale (+0,25 point) et une répartition différente des matières premières protéiques. Comme pour le régime Prot+, les ratios à la lysine digestible de la thréonine et des acides aminés soufrés ont été maintenus, et les autres ratios laissés libres.
Les 4 programmes alimentaires ont été répartis aléatoirement au sein des cases.

1.4. Paramètres mesurés :

Les animaux ont été pesés individuellement à 28, 52 et 76 jours d'âge. La consommation d'aliment a été calculée chaque semaine par case et les mortalités relevées quotidiennement.
Les volailles ont été abattues à l'abattoir des Fermiers du Sud-Ouest (St Sever). A l'issue du ressuyage, 80 animaux par traitement (40 mâles/40 femelles) ont été découpés individuellement. Les rendements de carcasse ont été exprimés en % du poids vif et ceux pour les cuisses et filets en % du poids carcasse.

1.5. Analyses statistiques :

Le calcul de la marge sur coût alimentaire utilisé lors de l'étude économique est MCA = [Poids vif moyen (kg) x prix du vif (€/kg)] – [(consommation aliment 1 (kg/poulet) * Prix aliment 1 (€/kg) + consommation aliment 2 (kg/poulet) * Prix aliment 2 (€/kg) + consommation aliment 3 (kg/poulet) * Prix aliment 3 (€/kg)]. Pour les besoins de l'étude, le témoin a été considéré à un prix d'aliment moyen de 0,300€/kg et le prix du vif à un paiement moyen de 1,6€/kg.
Les effets sur la consommation, l'indice de consommation (IC) et la marge sur coût alimentaire ont été analysés par analyse permutationnelle de la variance à 2 facteurs, sexe et aliment, seuls et en interaction (PERMANOVA-non paramétrique multivarié). Les effets des traitements sur le gain de poids quotidien (GMQ) et les autres paramètres zootechniques ont été analysés par analyse de la variance à 2 facteurs (sexe et aliment), seuls et en interaction (ANOVA). Il en est de même pour l'ensemble des paramètres d'abattage (rendements carcasse, cuisse et filet). Les mortalités sont également analysées par une ANOVA après transformation arcsinus-racine carrée des données. En cas d'effet significatif, les différences entre traitements ont été analysées par le test de comparaison multiple de moyennes de Student-Newmann et Keuls. Les différences sont considérées comme significatives au seuil de probabilité de 5% ($p<0,05$).
Toutes les variables ont été analysées collectivement par case, l'interaction sexe x traitement a également été prise en compte.
L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé à l'aide des logiciels Statview5 (SAS, France) et R version 4.0.3.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Résultats zootechniques

Sur tous les critères zootechniques suivis, aucune interaction significative entre aliment et sexe n'a été retrouvée.
Les performances en élevage (cf Tab.3) de poulets nourris avec les aliments E+, Prot+ et Concentré ont été similaires à celles des poulets nourris avec l'aliment T sur l'ensemble des paramètres mesurés, et ce, sur toutes les phases de croissance, à l'exception des indices de consommation. En effet, il est intéressant de constater qu'il n'existe pas de différence significative sur les poids vifs à J76 (moyenne 2,176 kg) et les GMQ qui en découlent (moyenne 28,06 g/j). L'analyse des données individuelles (non présentée) confirme ces résultats statistiques. En outre, le relevé des consommations moyennes d'aliments entre 28 et 76 jours n'a pas montré d'écart significatif selon les apports énergétiques et/ou protéiques (91,1g/j/poulet en moyenne) à J76. On n'observe donc pas de régulation significative de l'ingéré, dans les conditions de l'essai, sur les régimes E+ et Concentré, malgré un apport complémentaire de 100kcal.
En revanche, les volailles alimentées avec le régime Concentré ont un IC J28-J76 plus faible (-4,8% vs T) que celles nourries avec l'aliment Prot+ (-3,4% vs T) respectivement plus faible que l'aliment E+ (-1,4% vs T). Enfin, le régime témoin T avait l'IC le plus élevé ($2,75<2,79<2,85<2,89$, $p<0,001$). Ces écarts sur les indices de consommation entre T et Concentré sont présents et significatifs sur les périodes 28-51 jours et 52-76 jours (résultats non présentés), lorsque les régimes alimentaires sont différenciés (J28-J51 : T 2,59 vs Concentré 2,46 $p=0,006$/ J52-J76 : T 3,14 vs Concentré 3,00 $p<0,001$). Concernant les régimes E+ et Prot+, sur la période J28-J51, on n'observe pas de différence significative avec le témoin. Le régime Prot+ devient, quant à lui, significativement différent du régime Témoin sur la phase J52- J76 (3,015).
Concernant le régime E+, la supplémentation en acides gras sous forme d'apport en huile végétale permettrait d'accroitre l'apport énergétique au niveau des muscles et d'augmenter la synthèse protéique. Par ailleurs, Tesseraud et Temim, 1999 ont montré qu'à concentration énergétique équivalente, l'apport de 5 à 10% d'acides gras n'entrainait pas d'écarts significatifs sur l'indice de consommation. C'est donc bien la concentration énergétique qui semble avoir eu un effet plutôt que la forme d'apport de cette énergie.

Ces résultats sont confirmés par les écarts observés entre le régime Concentré, pour lequel la complémentation énergétique a été réalisée de manière mixte entre les apports lipidiques et glucidiques, et le régime témoin T.
L'apport complémentaire de protéine a permis une amélioration significative de l'IC (-1,5% pour Prot +, -2% pour Concentré vs T). Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux obtenus par Tesseraud et Temim (1999) qui ont observé une amélioration de l'efficacité alimentaire à 32°C avec un régime riche en protéine. Cette baisse suggère en outre un effet de l'arginine et/ou des autres acides aminés secondaires (dont les ratios sont corrélés au niveau de lysine digestible). Ces résultats sont toutefois à nuancer car ils diffèrent de ceux de la revue de Ojano-Dirain et Waldroup (2002) sur les besoins des poulets en conditions chaudes, qui montrent qu'une hausse en acides aminés (de 90 à 110% des apports recommandés) ne permettait pas d'améliorer les performances des animaux à des températures élevées.
Enfin, les différences d'IC observées dans cet essai permettent de mettre en évidence un effet additif entre apport protéique et énergétique, le régime Concentré améliorant significativement l'indice de consommation par rapport aux régimes Prot+ et E+, pris séparément. Quand on regarde le rapport EM/Protéine, on voit qu'il est plus bas sur les régimes Concentré et Prot+ que sur le régime T (respectivement 169 et 164 vs 173 kcal/unité protéique). On peut supposer que le régime témoin présente un excès d'énergie par unité protéique par rapport au régime Concentré, ne permettant pas un dépôt efficace de la protéine. Cette énergie serait alors mal utilisée par l'animal qui déposerait du gras plutôt que du muscle sur sa carcasse. L'évaluation de la quantité de gras abdominal lors d'un prochain essai permettrait de confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Durant toute la durée d'élevage, on observe par ailleurs des performances significativement meilleures pour les mâles par rapport aux femelles, confirmant le dimorphisme sexuel largement décrit dans la littérature en poulet de chair (GMQ 31,8g vs 24,3g; IC 2,56 vs 2,74 sur 0-77 jours; $p<0,05$).

2.2 Résultats d'abattage

Concernant le rendement filet, on observe aucune différence significative selon les quatre régimes alimentaires (21,4% en moyenne). Pour le rendement en cuisse, le régime témoin a un rendement plus élevé (36,51%) et que le régime Concentré (35,84%), les régimes P+ et E+ se positionnant de manière intermédiaire ($p=0,016$). Un effet du sexe ($P < 0,05$) a été observé sur l'ensemble des caractéristiques corporelles mesurées : les mâles ont obtenu un rendement filet plus bas (20,3 vs 22,5 ; $p<0.05$) et un rendement cuisse plus élevé (37,1 vs 35,3; $p<0,05$) que les femelles. En revanche, aucune interaction significative entre le sexe et le régime alimentaire n'a été mise en évidence.

2.3 Perspective technico-économique

Dans un contexte de prix donné, on note des augmentations respectives du coût alimentaire de 3,1% pour le régime Prot+, 5,6% pour le régime Concentré et 2,9% pour le régime E+ par rapport au régime témoin. Afin de prendre en compte ces différences, une analyse de la marge sur coût alimentaire a été réalisée. Les résultats sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4 : Calcul Marge sur coût alimentaire (MCA)

	Prix aliment (€/kg)	MCA (€/poulet)
Témoin (réf.)	0,300	1,745
Prot+	0,309	1,764
Concentré	0,317	1,755
E+	0,308	1,724
Femelle	0,309	1,466 b
Mâle	0,309	2,028 a
ANOVA		
Aliment		NS
Sexe		P<0,0001
Sexe x Alim.		NS

Ce tableau montre un écart de marge unitaire important selon le sexe, avec une augmentation de celle-ci de 38% pour les mâles (2.028€/poulet) par rapport aux femelles (1,466€/poulet), les mâles valorisant mieux l'aliment et étant plus performants sur l'ensemble des résultats zootechniques. En revanche, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence sur la marge entre les animaux nourris avec les différents régimes. Aucune interaction sexe x aliment n'a pas ailleurs été relevée.

3- CONCLUSION :

Les performances des volailles nourries avec des régimes enrichis en énergie et/ou protéine durant la phase estivale ont été différentes de celles des volailles nourries avec l'aliment témoin. Cet essai a permis de mettre en évidence une amélioration de l'indice de consommation des poulets labels nourris avec un aliment concentré en protéine et énergie lors de coup de chaleur par rapport aux aliments classiquement utilisés et à un apport séparé de protéine et d'énergie. Malgré une augmentation de 5,6% du prix de l'aliment, il est possible de maintenir des marges sur coût alimentaire similaires, tout en maintenant les poids vifs à l'abattoir.
Cette étude ayant été réalisée dans un contexte donné, il conviendra de réaliser plusieurs projections dans d'autres contextes de prix, afin d'évaluer l'intérêt pour les organismes de productions et leurs clients d'investir sur ces deux paramètres alimentaires, dans l'objectif de trouver la stratégie la plus profitable pour l'ensemble de la filière.

4. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Boudouma Dalila, Djamila Iabassen, et Samia Kazi Aouel. ITAVI 2013.
Bouvarel I, et Y. Franck. ITAVI 1994.
Meteociel - Observations météo pour Mont-de-Marsan (40000).
Ojano-Dirain, C. P., et P. W. Waldroup. 2002. International Journal of Poultry Science 1 (4) : 40-46.
Syafwan S., G. J. D. Wermink, R. P. Kwakkel, et M. W. A. Verstegen. 2012. Poultry Science 91 (3): 537□49.
Tesseraud S., Soraya Temin, Anne-Marie Chagneau, Solange Guillaumin, Joël Michel, Rosaria Pesseron, et Pierre André Geraert| ITAVI. 1997.
Tesseraud S., et S. Temim. 1999. INRAE Productions Animales 12 (5): 353□63.
Wang C., A. J. Zheng, M. Xie, W. Huang, J. J. Xie, et S. S. Hou. 2014. Animal: An International Journal of Animal Bioscience 8 (7): 1113□18.

Tableau 2 : Principales caractéristiques nutritionnelles des aliments croissance et finition.

	CROISSANCE (28-51j) - miette 0.9kg				FINITION (52-77j) - miette QSP (environ 2.7kg)			
Caractéristiques Nutritionnelles	**T**	**PROT +**	**CONC***	**E+**	**T**	**PROT +**	**CONC***	**E+**
EM(Wisium) (kcal/kg)	2950	2950	3050	3050	3030	3030	3130	3130
Protéine Brute (%)	17,01	18,00	18,00	17,00	15,32	16,29	16,30	15,30
Mat. Grasses Brutes (%)	3,1	3,0	3,3	4,6	3,2	2,7	3,6	4,6
Ratio Amidon/MG	14,2	14,5	13,6	9,5	15,0	17,5	13,1	10,1
Lysine Dig. (%)	0,90	0,90	1,00	0,90	0,80	0,80	0,90	0,80
M+C/Lys Dig	0,72	0,72	0,72	0,72	0,75	0,75	0,75	0,75
Thr/Lys Dig	0,61	0,63	0,61	0,61	0,62	0,62	0,61	0,62
Try/Lys Dig	0,19	0,21	0,18	0,19	0,17	0,20	0,17	0,17
Arg dig /lys dig	1,00	1,10	0,95	0,98	0,90	1,00	0,84	0,89

*CONC=Concentré

Tableau 3 : Comparaison des performances zootechniques (28-76 jours) et des rendements en filet et cuisse de volailles nourris avec les trois régimes supplémentés (E+, Prot+, Concentré) vs un témoin (T).

	PV J76 (g)	Conso. Moy. J28-76 (g/plt/j)	GMQ J28-76 (g/plt/j)	IC J28-76	Rendement cuisse (%)	Rendement filet (%)
Témoin	2154 ±32	92,2 ±12,4	32,17 ±6,18	2,89 ±0,17 d	36,51 ±1,54 a	21,57 ±1,76
Prot+	2187 ±31	90,9 ±11,4	32,92 ±6,08	2,79 ±0,17 b	36,26 ±1,53 ab	21,58 ±1,87
Conc*	2199 ±33	89,8 ±12,2	33,00 ±6,48	2,75 ±0,17 a	35,84 ±1,75 b	21,48 ±1,71
E+	2164 ±31	91,6 ±12,0	32,37 ±5,77	2,85 ±0,14 c	36,16 ±1,37 ab	21,12 ±1,92
Mâles	2463 ±46	102,0 ±1,8	38,18 ±0,89	2,67 ±0,06	37,07 ±1,25	20,34 ±1,38
Femelles	1889 ±37	80,3 ±2,0	27,05 ±0,62	2,97 ±0,07	25,32 ±1,35	22,53 ±1,52
Sexe x Trait.	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Sexe	<0,0001	<0,001	<0,0001	<0,001	<0,0001	<0,0001
Traitement	NS	NS	NS	<0,001	p=0,0156	NS

*CONC= Concentré
Les résultats présentés correspondent aux moyennes +/- écart-types. NS = non significatif au seuil de probabilité de 5%

UTILISATION D'UN COMPLEXE ALGUES-ARGILE DANS L'ALIMENT DES POULETS DE CHAIR : UN MOYEN DE REPONDRE AUX ENJEUX ECONOMIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX ?

Gallissot Marie[1], Pedro Eleutério Aleixo[2], Albino Luiz Fernando Teixiera[2], Rostagno Horacio Santiago[2], Pereira Raquel[1], Rodriguez Maria Angeles[1]

[1]OLMIX GROUP - ZA du Haut du Bois - 56580 BREHAN, FRANCE
[2]UNIVERSITY OF VIÇOSA, Agricultural Science Center, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitario, 36570-900 VICOSA, BRESIL
mgallissot@olmix.com

RÉSUMÉ

Améliorer la digestibilité de l'aliment est à la fois un enjeu économique, puisque l'aliment est le poste de dépense majeur en élevage, et un enjeu environnemental, du fait de permettre une réduction des rejets azotés et donc de l'impact environnemental des élevages. L'objectif de cette étude était d'évaluer la capacité d'un complexe algues-argile incorporé dans l'aliment à répondre à ces enjeux, en testant son effet sur la digestibilité de l'aliment et les performances zootechniques chez le poulet de chair. Deux essais ont été mis en place : un essai de digestibilité et un essai zootechnique. Pour chaque essai, les animaux ont été affectés aléatoirement à l'un des deux traitements : Témoin, nourri avec un régime standard maïs-soja, et Test, nourri avec le même régime standard supplémenté avec 0,1% de complexe algues-argile. L'énergie métabolisable apparente et standardisée pour l'azote ainsi que l'équilibre et la rétention azotés ont été mesurés à partir des excrétas totaux des poulets collectés pendant 5 jours dans l'essai de digestibilité. Par ailleurs, les performances zootechniques ont été évaluées pour chaque phase alimentaire de 1 à 42 jours dans le second essai. Les résultats montrent une énergie métabolisable apparente plus élevée dans le groupe test que le témoin (+56 kcal/kg, *P*=0,032) ainsi qu'une tendance à l'amélioration de la rétention azotée (+6%, *P*=0,052). Les performances zootechniques sont également améliorées dans le groupe test par rapport au témoin : -0,03 point d'indice de consommation (*P*=0,046). Le poids vif à 42 jours est plus élevé (+78 g) mais non significatif (*P*=0,163. Dans cet essai, le bénéfice net sur coût d'aliment est augmenté de 0,04 €/poulet dans le groupe test par rapport au témoin. Ainsi, le complexe algues-argile testé pourrait contribuer à répondre aux enjeux économiques et environnementaux auxquels doivent faire face les producteurs aujourd'hui.

ABSTRACT

Use of an algae-clay complex in the feed of broiler chickens: a way to address economic and environmental concerns?

Improving the digestibility of the feed is both an economic concern, since the feed is the main cost contributor in production, and an environmental concern, as it reduces nitrogen emissions and so the environmental impact of livestock farming. The objective of this study was to evaluate the capacity of an in-feed algae-clay complex to address these stakes, by testing its effect on feed digestibility and performance of broilers. Two experiments were conducted: a digestibility trial and a performance trial. For each trial, the animals were randomly allotted to one of the two treatments: control, fed a standard corn-soybean diet, and test, fed the same standard diet supplemented with 0.1% of algae-clay complex. The apparent and nitrogen-corrected metabolizable energy as well as the nitrogen balance and retention were measured on total excreta of broilers collected for 5 days in the digestibility trial. Moreover, performance parameters were evaluated for each feeding phase from day 1 to day 42 in the second trial. Results show a higher digestibility of the feed (+56 kcal/kg, *P*=0.032) and a tendency for improved nitrogen retention (+6%, *P*=0.052) in the test group compared to the control group. Broilers' performances were also improved in the test group compared to the control group: -0.03 point in feed conversion ratio (*P*=0.046). The live weight at 42 days was higher (+78 g) but not significant (*P*=0.163). In this trial, the net benefit over feed cost was increased by €0.04/chicken in the test group compared to the control group. Thus, the tested algae-clay complex may contribute to address economic and environmental concerns faced by producers.

INTRODUCTION

L'amélioration de la digestibilité de l'aliment chez les volailles de chair est un enjeu de taille, répondant à la fois à des préoccupations économiques et environnementales. L'aliment représente environ 65% du coût de production en poulet de chair (Itavi, 2021), avec une pression particulière lorsque le prix des matières premières flambe. Améliorer la digestibilité de l'aliment est donc un levier majeur pour réduire le coût de production. Par ailleurs, chez les monogastriques, l'alimentation représente 55 à 75% de l'impact environnemental lié à l'élevage (Prudêncio da Silva *et al.*, 2014 ; Garcia-Launay *et al.*, 2017). Dans ce contexte, les meilleures techniques disponibles (MTD) publiées par l'Union européenne dans le cadre de la Directive 2010/75/EU ou encore les Bonnes Pratiques Environnementales d'Élevage (BPEE) recensées par le RMT Elevages et environnement invitent à améliorer l'efficacité alimentaire de manière à optimiser l'utilisation des matières premières et réduire les rejets, azotés notamment, qui ont un impact important sur l'eutrophisation et l'acidification des sols (Belloir *et al.*, 2017). Plusieurs techniques permettent d'aller dans ce sens, parmi lesquelles l'alimentation multiphase, la réduction du taux protéique de l'aliment couplé à l'utilisation d'acides aminés synthétiques, ou l'utilisation d'additifs contribuant à réduire les excrétions azotées. La présente étude a été mise en place pour évaluer la capacité d'un complexe algues-argile incorporé dans l'aliment à répondre à ces enjeux, en testant son effet sur la digestibilité de l'aliment et les performances zootechniques chez le poulet de chair.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Essai de digestibilité

Quatre-vingt-seize (96) poulets mâles de 14 jours d'âge ont été placés dans 16 cages de 6 poulets chacune, affectées aléatoirement à l'un des deux traitements : Témoin, nourri avec un régime standard maïs-soja, formulé selon les tables de nutrition brésiliennes pour porcs et volailles (Rostagno *et al.*, 2017), et Test, nourri avec le même régime standard supplémenté avec 0,1% de complexe algues-argile (CAA). Après une période d'adaptation de 5 jours, les excrétas totaux des poulets étaient collectés deux fois par jour pendant 5 jours et conservés à -18°C. A la fin de l'essai, les échantillons ont été décongelés, pesés, homogénéisés puis séchés à 55°C pendant 72 heures. Les teneurs en matière sèche, énergie brute et azote ont été mesurées dans l'aliment et les excrétas selon la méthode décrite par Silva et Quiroz (2002). Elles ont été utilisées pour calculer l'énergie métabolisable apparente (EMA) et standardisée pour l'azote (EMAn) selon la méthode de Sakomura et Rostagno (2016) ainsi que l'excrétion azotée. A partir de cette variable, la rétention azotée (g) et le coefficient d'utilisation digestive (CUD_N) ont également été calculés, comme indicateurs de la digestibilité des protéines. Les résultats ont été soumis à une analyse de variance (ANOVA, α=0,05) avec le logiciel R (v. 3.6.1), avec pour individu statistique la cage.

1.2. Essai zootechnique

Quatre cents (400) poussins mâles de 1 jour d'âge ont été répartis dans 20 parquets de 20 poulets chacun, affectés aléatoirement à l'un des deux traitements de l'essai. Les deux traitements différaient par la supplémentation des aliments en CAA : aucune supplémentation dans le groupe témoin, et une supplémentation à 0,1% de tous les aliments dans le groupe test. Les animaux ont reçu quatre aliments différents de 1 à 42 jours (Tableau 1), formulés selon les recommandations des tables de nutrition brésiliennes pour porcs et volailles (Rostagno *et al.*, 2017). Les performances zootechniques ont été évaluées pour chaque phase alimentaire : gain moyen quotidien (GMQ), consommation d'aliment, indice de consommation (IC) et index de productivité (IP = GMQ (g) * [% de survie / (IC * 10)]). Les résultats ont été soumis à une analyse de variance (ANOVA, α=0,05) avec le logiciel R (v. 3.6.1), avec pour individu statistique le parquet. La consommation d'aliment et le poids vif des poulets à 42 jours ont été utilisés pour estimer les bénéfices sur coût alimentaire dans chaque traitement.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Essai de digestibilité

La digestibilité de l'aliment est plus élevée dans le groupe test que le témoin. L'EMA et l'EMAn ont été augmentées respectivement de 66 kcal/kg et 56 kcal/kg (P<0,05) avec la supplémentation en CAA (Tableau 2). La rétention azotée a également été améliorée dans le groupe test par rapport au témoin (+10,2%, P=0,017), entrainant une hausse numérique de 5,7% du CUD_N (P=0,052) (Tableau 2).

2.2. Essai zootechnique

Les performances zootechniques sont présentées dans le Tableau 3. L'IC global a été réduit de 0,033 points avec la supplémentation en CAA (P<0,05) et le poids vif moyen à 42 jours a été numériquement augmenté de 78 g (P=0,163), soit un GMQ global numériquement augmenté de 2% (P=0,163). L'évolution de l'IC et du GMQ (Figure 1) par phase alimentaire semble montrer un effet de la supplémentation plus important lors des phases de croissance (21-33 jours) et de finition (33-42 jours). Aucune différence significative n'a été observée sur la consommation d'aliment et le taux de survie entre les deux groupes (Tableau 3). L'analyse économique est présentée dans le Tableau 3. Le coût alimentaire dans le groupe test était plus élevé que dans le groupe témoin (+0,025 €/poulet) du fait de l'incorporation du complexe algues-argile. En revanche, les revenus

étaient augmentés de 0,064 €/poulet dans le groupe test par rapport au témoin, entrainant une hausse des bénéfices sur coût d'aliment de 0,039 €/poulet.

2.3. Discussion

Les deux expérimentations mises en place dans cette étude montrent des résultats concordants quant à l'effet du complexe algues-argile sur l'efficacité alimentaire des poulets de chair. Ces résultats sont en accord avec l'effet du même complexe algues-argile observé sur la digestibilité (Gallissot et Laurain, 2017) et les performances zootechniques (Williams *et al.*, 2020) chez le porc en croissance. L'utilisation des argiles seules, à des doses 15 à 35 fois supérieures, a également amélioré l'efficacité digestive et les performances chez le poulet de chair (Ouachem *et al.*, 2015). Reichardt (2008) et Habold *et al.* (2009) ont décrit la capacité des argiles à favoriser le contact entre les enzymes digestives et les nutriments et ont souligné la présence de cofacteurs enzymatiques dans les argiles, sous la forme d'ions métalliques. Les ions métalliques, également fortement présents dans les macroalgues (Kim, 2012) ont la capacité d'activer certaines enzymes (Williams, 1960 ; Niederhoffer, 2000 ; Jondreville *et al.*, 2002), selon un procédé de biocatalyse. D'après ces études, le complexe algues-argile testé peut être considéré comme un réseau biocatalytique favorable à l'activité des enzymes digestives, qui pourrait être à l'origine de l'augmentation observée de digestibilité de l'aliment (significatif pour l'énergie, et très forte tendance pour le CUD_N, qui peut s'expliquer par le faible nombre de répétitions), entrainant une amélioration de l'efficacité alimentaire.

CONCLUSION

Cette étude démontre l'intérêt du complexe algues-argile testé pour améliorer la digestibilité de l'aliment (l'énergie en particulier) et les performances des poulets de chair nourris avec un régime de type maïs-soja. Ceci permet d'une part d'améliorer les performances économiques (augmentation des bénéfices sur coût d'aliment), et d'autre part de réduire l'impact environnemental des poulets de chair (amélioration de la rétention azotée et moindre utilisation d'aliment pour atteindre un poids vif équivalent). Ainsi, l'utilisation du complexe algues-argile testé dans l'alimentation des poulets de chair est prometteur pour répondre aux enjeux économiques et environnementaux auxquels doivent faire face les producteurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Belloir P., Méda B., Lambert W., Corrent E., Juin H., Lessire M., Tesseraud S., 2017. Animal, (11 :11), 1881-1889.

Cabezas M.J., Salvador D., Sinisterra J.V., 1991. J. Chem. Tech. Biotechnol., (52), 265-274.

Gallissot M., Laurain J., 2017. Journées Rech. Porcine, (49), 115-116.

Garcia-Launay et al., 2017. Journées Rech. Porcine, (49), 239-244.

Habold C., Reichardt F., Le Maho Y., Angel F., Liewig N., Lignot J.H., Oudar H., 2009. Brit. J. Nutr., (102), 249-257.

ITAVI, 2021. https://www.itavi.asso.fr/content/les-indicateurs-anvol-interprofession-de-la-volaille-de-chair.

Kim S.K., 2012. In : Handbook of marine macroalgae. (Wiley-Blackwell) John Wiley and Sons.

Niederhoffer E.C., 2000. http://www.siumed.edu/~eniederhoffer/bmb_courses/mbmb451b/lectures/mbmb451b_enzcat.pdf

Ouachem D., Kaboul N., Meredef A., Abdessemed F., Ahmed Gaid Z., 2015. Worlds Poult Sci J, (71), 184-189.

Prudêncio da Silva V., van der Werf H. M. G., Soares S. R., Corson M. S., 2014. J Envrion Manage., (133), 222-231.

Reichardt F., 2008. In : Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg, France, pp226.

Rostagno H. S., Albino L. F. T., Hannas M. I., Donzele J. L., Sakomura N. K., Perazzo F. G., Saraiva A., Abreu M. L. T., Rodrigues P. B., Oliveira R. F., Barreto S. L. T., Brito O. C., 2017. In : Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. (Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia), Viçosa, pp488.

Sakomura N. K., Rostagno H. S., 2016. In : Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. 2nd ed. (Funep) Jaboticabal, pp262.

Silva D. J., Queiroz A. C., 2002. In : Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos 3. ed. (Universidade Federal de Viçosa), Viçosa, pp235.

Williams H., Del Tuffo L., Woodworth J., DeRouchey J., Dritz S., Tokach M., Goodband R., Erceg J., Gallissot M., 2020. J Anim Sci., (98), 185-186.

Williams R. J. P., 1960. Nature, (188), 322.

Tableau 1. Composition des régimes expérimentaux pour la stratégie Témoin. Dans les aliments de la stratégie Test, le sable lavé était remplacé par le complexe algues-argile.

Ingrédients (%)	Préstarter J1-10	Démarrage J10-21	Croissance J21-33	Finition J33-42
Maïs	49,077	51,013	57,320	63,064
Tourteau de soja	43,560	41,247	35,081	29,845
Huile de soja	3,541	4,257	4,573	4,308
Phosphate dicalcique	1,271	1,050	0,850	0,767
Carbonate de calcium	0,964	0,880	0,745	0,647
Chlorure de sodium	0,532	0,515	0,491	0,465
DL-Méthionine 99%	0,336	0,318	0,272	0,231
L-Lysine 78%	0,132	0,137	0,156	0,171
L-Thréonine 98%	0,052	0,048	0,037	0,027
Prémix minéral[1]	0,130	0,130	0,100	0,100
Prémix vitaminique[2]	0,130	0,130	0,100	0,100
Chlorure de choline 60%	0,100	0,100	0,100	0,100
Salinomycine 12%	0,055	0,055	0,055	0,055
BHT	0,010	0,010	0,010	0,010
Phytase	0,010	0,010	0,010	0,010
Sable lavé[3]	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100	100	100	100
Composition calculée (%)				
Protéine brute, %	24,1	23,2	20,9	19,0
Energie métabolisable (kcal/kg)	2 975	3 050	3 150	3 200
Ca	0,971	0,878	0,758	0,700
P disponible	0,463	0,419	0,374	0,330
Na	0,225	0,218	0,208	0,197
Lys digestible	1,307	1,256	1,124	1,014
Met + Cys digestible	0,967	0,929	0,832	0,750
Thr digestible	0,863	0,829	0,742	0,669
Trp digestible	0,279	0,257	0,235	0,209
Val digestible	1,006	0,967	0,865	0,781
Arg digestible	1,525	1,460	1,286	1,143
Gly + Ser digestible	1,948	1,870	1,506	1,359

[1]Teneur par kg : Fer – 55,0 mg ; Cobalt – 2,0 g ; Cuivre – 11,0 mg ; Manganèse – 77,0 mg ; Zinc – 71,5 mg ; Iode – 1,10 mg ; [2]Teneur par kg : Vit, A – 8 250 U,I, ; Vit, D3 – 2 090 U,I, ; Vit, E – 31,0 U,I, ; Vit, B1 – 2,20 mg ; Vit, B2 – 5,50 mg ; Vit, B6 – 3,08 mg ; Vit, B12 – 0,013 mg ; Acide pantothénique – 11,0 g ; Biotine – 0,077 mg ; Vit, K3 – 1,65 mg ; Acide folique – 0,77 mg ; Acide nicotinique – 33,0 mg ; Sélénium – 0,330 mg ; [3]Substance inerte remplacée par le complexe algues-argile dans les aliments tests.

Tableau 2. Performances de digestibilité pour les deux stratégies alimentaires testées.

Paramètres		Témoin	Test	SEM. (%)	Différence (%)	P-value
EMA[1]	kcal/kg	3 293	3 359	2,61	+2,0	0,048
EMAn[2]	kcal/kg	3 107	3 163	2,44	+1,8	0,032
Azote ingéré	g	13,54	14,11	4,20	+4,2	0,041
Azote excrété	g	4,53	4,18	11,48	-7,7	0,179
Rétention azotée	g	9,01	9,93	8,57	+10,2	0,017
CUD_N[3]	%	66,5	70,3	5,8	+5,7	0,052

[1]Energie métabolisable apparente ; [2]EMA standardisée pour l'azote ; [3]Coefficient d'Utilisation Digestive de l'azote

Tableau 3. Performances technico-économiques pour les deux stratégies alimentaires testées.

Paramètres		Témoin	Test	Différence	P-value	C.V. (%)
Performances zootechniques						
Poids initial	kg/poulet	0,045	0,045	0,000	0,293	0,37
Poids final	kg/poulet	3,259	3,337	+0,078	0,163	3,74
Gain moyen quotidien	g/j	78,4	80,3	+1,9	0,163	3,79
Ingéré	kg/poulet	4,780	4,789	+0,009	0,906	3,50
Indice de consommation		1,488	1,455	-0,033	0,046	2,58
Taux de survie	%	95,5	93,5	-2,0	0,439	5,92
Indice de productivité		503	516	+12	0,523	8,39
Performances économiques[1]						
Quantité aliment	kg	4 780	4 791	+101	/	/
Coût alimentaire	€	1 076	1 101	+25	/	/
Poids vif vendu	kg	3 259	3 337	+78	/	/
Revenus	€	2 689	2 753	+64	/	/
Bénéfices sur coût d'aliment	€	1 613	1 652	+39	/	/

[1]Calculées pour 1 000 poulets vendus, avec les valeurs de marché locales au moment de l'essai (pris de l'aliment : 0,225 €/kg ; prix du poids vif : 0,825 €/kg).

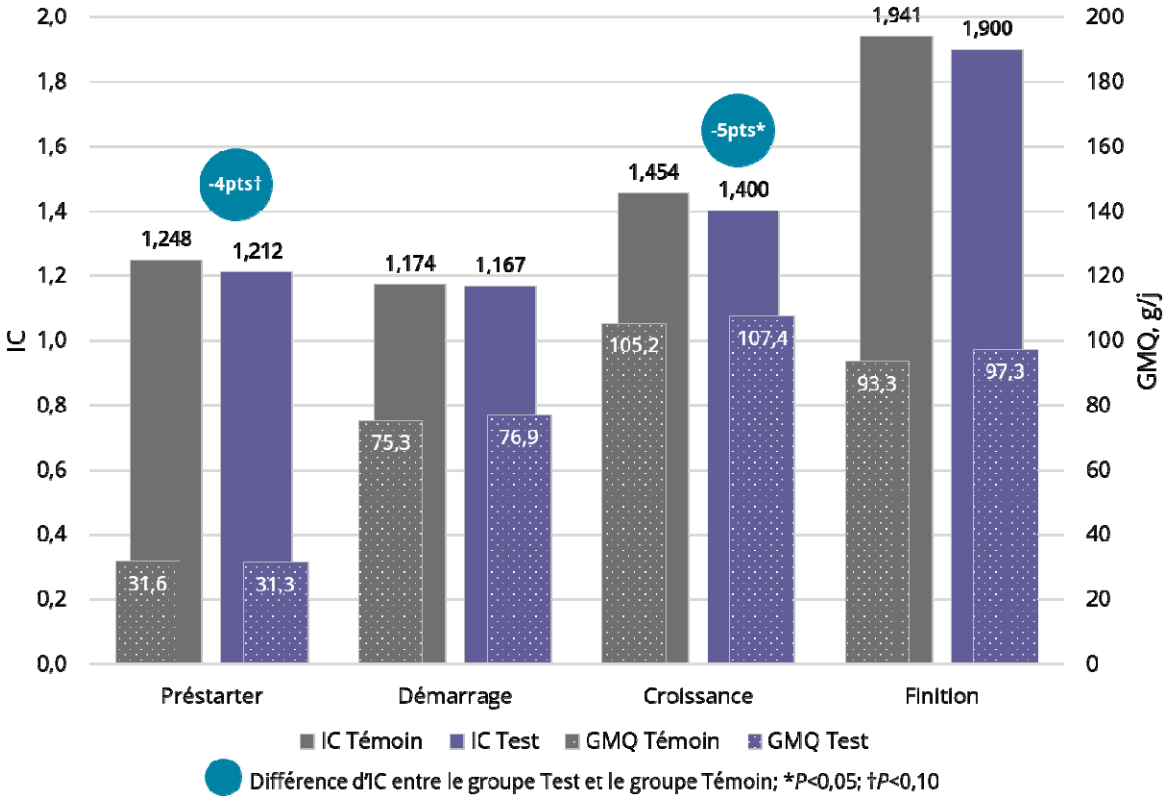


Figure 1. Performances zootechniques par phase alimentaire pour les deux stratégies alimentaires testées.

PERFORMANCE DE POULETS DE CHAIR NOURRIS AVEC DIFFERENTS NIVEAUX D'ARABINOXYLANES SOLUBLES AVEC OU SANS STIMBIOTIQUE

Rousseau Xavière[1] ; Gomes A. Gomes[1] ; Tiago T. dos Santos[1]

[1]AB VISTA, 3 Woodstock Court, Marlborough, SN8 4AN, United Kingdom

Xaviere.rousseau@abvista.com

RÉSUMÉ

L'objectif de cet essai était d'évaluer l'effet de niveaux croissant de PNA (Polysaccharides Non Amylacés) et d'arabinoxylanes solubles (AXs) comparé à un aliment maïs-soja. Un total de 2184 Cobb 500 ont été répartis suivant 12 traitements avec 7 parquets de 26 poulets par traitement. Un design factoriel complet 6x2 consistant en 5 niveaux d'AXs et un aliment base maïs-soja de référence avec ou sans stimbiotique (STB). Le gain moyen quotidien (GMQ), la consommation moyenne journalière (CMJ) et la mortalité ont été relevés à la fin de chaque phase de croissance. L'indice de consommation a été calculé et corrigé pour la mortalité (IC) et pour le poids (IC corrigé) et l'EPEF (Facteur européen d'efficacité de production) calculé. Les données ont été soumises à une ANOVA (sauf la mortalité analysée par un Chi-square) et les moyennes séparées par un test de Student. Des contrastes linéaires et logarithmiques ont été testés en utilisant les niveaux d'AXs avec et sans stimbiotique. Aucun effet des traitements n'a été mis en évidence sur la mortalité (P>0.10). Des interactions ont été notées sur les performances avec des animaux présentant différentes réponses aux AXs suivant l'âge et la supplémentation en stimbiotique. Sur l'ensemble de l'essai les performances étaient optimisées avec les régimes hauts en AXs mais des effets négatifs ont été observés chez les animaux les plus jeunes avec les régimes sans STB alors que pour les stades de croissance plus avancées le niveau intermédiaire a permis un poids le plus élevé. Dans tous les cas, STB a amélioré les performances et d'autant plus avec les régimes les plus hauts en AXs. Aucune interaction n'a été notée pour l'EPEF (P>0.10) ni d'effet aliment (P>0.10) alors que le STB a amélioré de 12 points ce critère. L'IC corrigé tendait à être amélioré linéairement pour les poulets supplémentés avec le STB avec l'augmentation des AXs alors que sans STB aucun effet n'a été mis en évidence. Pour conclure, AXs peut être temporairement néfaste pour les performances des poulets mais globalement les aliments avec des niveaux hauts peuvent apporter des bénéfices non négligeables. L'utilisation du STB a amélioré les performances et peut être considéré comme un levier d'action pour améliorer l'utilisation de la fibre alimentaire.

ABSTRACT

Broilers chickens' performance fed with different soluble arabinoxylans levels with and without stimbiotic

The objective of this trial was to evaluate the effect of dietary NSPs and soluble arabinoxylans (AXs) increase when compared against a corn/soybean meal-based diet. A total of 2,184-day old male Cobb 500 broilers were assigned to 12 treatments, with 7 pen replicates of 26 birds each. Trial design was a 6x2, consisting of 5 graded levels of AXs and a corn-soy based diet that served as a reference with or without stimbiotique. Average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and mortality were recorded at the end of every feeding phase. Feed conversion ratio was calculated and corrected by mortality (FCR) and by body weight (bwcFCR), and EPEF (European Production Efficiency Factor) calculated. Data was submitted to two-way ANOVA (except livability which was analyzed by Chi*square) and means separated using Student/s T-test. Additionally, linear and quadratic orthogonal contrasts were performed using the treatments with graded levels of AXs content with or without STB. There was no effect of treatments on livability throughout the trial (P>0.10). Several interactions were seen on performance, with birds presenting different responses to dietary AXs content depending on age and STB supplementation. Overall, performance was optimized when diets with more AXs content were fed to birds, but initially some detrimental effects were seen without STB supplementation while at later stages the intermediate levels of AXs delivered the highest body weight improvements. Irrespective of that, STB improved the performance of birds and further improved the response to AXs. No interactions were noted on EPEF (P>0.10) and no diet effects (P>0.10) with STB improving EPEF by 12 points (P>0.05). A trend for linear improvement of bwcFCR for birds fed with STB with the AXs increase while without STB no effects were seen. In conclusion, AXs can temporarily be detrimental for bird performance, but overall feeding diets with higher AXs would exert more benefits than not. The use of STB improved performance, showing to be a pivotal strategy to improve dietary fiber utilization.

INTRODUCTION

Le contexte actuel fait qu'un intérêt grandissant se porte sur la compréhension de la fraction fibreuse de nos aliments puisqu'elle représente un levier d'action crucial pour contrôler et assurer une santé intestinale optimale et par conséquent assurer de bonnes performances de production. De récents travaux ont été menés afin de mieux caractériser la fibre au-delà de la mesure traditionnelle des fibres brutes ou même des NDF et ADF (AB Vista, 2021). En effet, ces critères ne donnent pas d'informations sur leur fonctionnalité et restent des méthodes approximatives concernant le contenu total en fibre nous conduisant à sous-estimer le contenu en fibre des aliments (Graham et al., 1988) et notamment la fraction soluble. Cependant, nous devons reconnaître que ces critères étaient jusqu'à aujourd'hui les plus pertinents puisque l'analyse des fibres totales et de leur fractions soluble et insoluble étaient des techniques chronophages et coûteuses. Grâce à la spectrométrie en proche infra-rouge il est aujourd'hui possible d'analyser le contenu en fibre totale incluant la lignine et les différents constituants des polysaccharides non amylacés (PNA) solubles et insolubles de façon robuste et instantanée dans nos ingrédients (Gomes et al.,2021). Si les fibres semblent maintenant être acceptées comme un nutriment fonctionnel à part entière avec une valeur au-delà de sa valeur énergétique, la compréhension et une meilleure caractérisation de ce nutriment est nécessaire pour en déterminer une utilisation optimale et éviter les effets néfastes qui peuvent y être associés notamment chez les jeunes animaux. Cette étude a donc pour objectif d'évaluer l'effet de différents niveaux alimentaires d'arabinoxylanes solubles (composants principaux des PNA) et de tester l'intérêt de la supplémentation en stimbiotique (stimulation des populations bactériennes fibrolytiques de la partie distale) chez des poulets de 0 à 42 jours d'âge.

1. MATERIELS ET METHODES

Pour cet essai, réalisé au centre de recherche de Bangkok (BARC, Thaïlande), un total de 2184 poussins male de souche Cobb 500 et d'un poids moyen de 45.5g ont été répartis dans 84 parquets de 26 poulets. Les animaux ont été nourris *ad libitum* avec 3 aliments (démarrage de 0-10j en miette, croissance de 11 à 24j en granulés et finition de 25 à 42j en granulés). Le schéma expérimental est un factoriel complet 6x2 consistant en 5 niveaux croissants d'arabinoxylanes solubles (AXs) et un aliment de référence maïs soja supplémenté ou non avec un stimbiotique (STB, Signis, AB Vista, Marlborough, UK). Les 5 régimes (Tableau 1) sont identifiés comme suit : 1) 100% Haut AXs formulé avec du blé, son de blé et des tourteaux de soja, tournesol et colza 2) 100% Bas AXs formulé à base de maïs, drêches de maïs, son de riz et tourteau de soja 3) Intermédiaire 1 : 75% Haut AXs + 25% Bas AXs 4) Intermédiaire 2 : 25% High AXs + 75% Bas AXs 5) Intermédiaire 3 : 50% Haut AXs + 50% Bas AXs. Avant le début de l'essai, les différentes matières premières principales ont été scannées par SPIR et les prédictions générées par le FQS d'AB Vista (Feed Quality Service) pour les mesures de routine (cendres, amidon, fibre, protein, matière grasse) ainsi que les acides aminés, PNAs et leurs différents composants utilisés pour formuler les 3 aliments de base pour chaque phase d'alimentation. Tous les aliments ont été supplémentés avec 750 FTU/kg de phytase (Quantum Blue, AB Vista, Marlborough, IK). Le profil fibreux des aliments est décrit dans le tableau 1. Les animaux ont été pesés à chaque changement d'aliment permettant de calculer un poids vif moyen et le gain moyen quotidien (GMQ). La consommation d'aliment a été relevé par parquet et la consommation moyenne journalière (CMJ) calculée. L'indice de consommation a été calculé et corrigé par la mortalité (IC) et par le poids (IC corrigé). La mortalité a été relevée et l'indice européen d'efficacité de production (EPEF) calculé. Les données ont été soumises à une ANOVA (sauf la mortalité analysée par un test de Chi-square) et les moyennes séparées par un test de Student. Des contrastes orthogonaux linéaires et quadratiques ont été testés en utilisant les traitements avec des niveaux de AXs croissants avec ou sans STB. La significativité a été acceptée à un seuil de $P \leq 0.05$ et les tendances discutées quand $P < 0.10$ (Tableau 2).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Aucun effet des traitements alimentaires n'a été observé sur la mortalité ($P > 0.10$).

Sans stimbiotique, à 10 jours, les animaux ont eu des performances diminuées lorsqu'ils recevaient les aliments les plus riches en AXs. En effet, une réduction linéaire du poids vif et de l'ingestion, et par conséquent de l'IC, a été observée ($P < 0.05$) avec l'augmentation en AXs. Cet effet négatif des AXs disparait chez les animaux plus âgés. Ce résultat est très probablement lié au fait que les animaux n'ont pas un microbiome assez mature qui leur permettrait de fermenter ces fibres solubles de façon efficace dans la partie distale de l'intestin ce qui en limite donc leur utilisation. En effet, des auteurs ont montré que la production d'acides gras à chaines courtes augmente avec l'âge des animaux (Lee et al., 2017). Cet effet est lié à la maturité du microbiome présent dans les caeca (site de fermentation anaérobique) capable de fermenter ce type de substrat. L'établissement d'un microbiome adapté prend du temps et l'âge est donc un facteur crucial (Ballou et al.,2016) à prendre en compte concernant l'utilisation des fibres.

A 24j, il n'y a plus de diminution de performance avec les niveaux croissants de AXs avec une amélioration linéaire de l'IC ($P < 0.05$) mais pas d'effet sur le poids vif et l'ingestion. A 42 jours, les animaux

avec le meilleur IC étaient ceux recevant les aliments les plus riches en AXs. Il apparait clairement *via* ces résultats que la capacité des animaux à « traiter » ce type de substrat augmente avec l'âge grâce à l'établissement d'un microbiome plus mature et adapté et que 24j est un âge pivot dans la capacité des animaux à gérer la fraction fibreuse.

Chez les animaux nourris avec les aliments supplémentés avec le stimbiotique, la réponse observée est totalement différente. En effet, à 10 jours, les animaux ayant reçu l'aliment supplémentés en STB sont ceux avec les meilleures performances et ce de façon linéaire (amélioration linéaire du poids vif, de l'ingestion et de l'indice, $p<0.05$). Cette amélioration de l'utilisation des AXs grâce au STB se vérifie également à 24 jours avec une amélioration linéaire du poids, de l'ingestion et de l'indice ($P<0.05$). A ce même âge, il est intéressant de noter que les animaux avaient un IC amélioré de 5 points comparé au régime de référence à base de maïs/soja ($P<0.05$). Le concept du STB est de stimuler et de moduler l'établissement d'un microbiome capable d'optimiser l'utilisation des fibres afin que les animaux, dès le plus jeune âge, soit capable d'en extraire l'énergie (Bautil et al.,2019) afin de garantir de bonnes conditions intestinales qui se traduisent généralement en termes de performance. Des études ont en effet montré l'effet bénéfique de l'utilisation de STB sur la modulation du microbiome chez le porc (Cordero et al.,2019) et la volaille (Rousseau et al.,2021) *via* la stimulation de bactéries fibrolytiques qui résultent en une augmentation de la production d'acides gras à chaines courtes (AGCC), garantissant un pH plus acide (Apajahlati, 2005) et une augmentation de l'activité enzymatique bactérienne observée chez le porc (Marinho et al.,2007) et la volaille (Gonzales-ortiz et al.,2021). En effet, de récentes études chez le poulet de chair (Rousseau et al., 2021) et chez le porc (Cho et al., 2020) ont montré que l'utilisation de STB permet de prévenir des défis entériques auxquels les animaux doivent faire face dans des systèmes de production commerciale. Rousseau et al. (2021) a montré une diminution drastique de la prévalence des Salmonelles dans les caeca de poulets de chair nourris avec des aliments supplémentés en STB alors que Cho et al. (2020) a montré une réduction de la réponse inflammatoire de porcs placés dans des conditions sanitaires dégradées avec une diminution des traitements antibiotiques de 45%. La stimulation d'un microbiome fibrolytique et, par conséquent, une proportion moindre des fermentations protéiques permet d'avoir des conditions intestinales optimales et par conséquent des animaux plus performants.

A 42 jours, l'ingestion et le poids des animaux répond quadratiquement à l'augmentation en AXs avec un poids et une ingestion maximale pour les niveaux intermédiaires de AXs. Cependant, l'IC était, quant à lui, linéairement amélioré ($P<0.05$) et les poulets avec le plus haut niveau de AXs et supplémentés avec le STB ont montré un IC amélioré de 3 points comparé au régime de référence ($P<0.05$). Il semblerait donc qu'un niveau minimal d'AXs soit requis pour atteindre des performances maximales chez des poulets en phase de finition.

Nous n'avons pas noté d'interaction concernant l'EPEF ($P>0.10$) ni d'effet aliment ($P>0.10$). Cependant, le STB a permis d'améliorer l'EPEF de 12 points ($P<0.05$). L'IC corrigé par le poids tend à être amélioré chez les animaux nourris avec les régimes supplémentés avec le STB avec une amélioration linéaire ($P<0.05$) alors qu'aucun effet n'a été mis en évidence lorsque les animaux recevaient des niveaux croissants de AXs sans STB ($P>0.10$).

CONCLUSION

Les performances ont été influencées à la fois par la concentration en AXs et par la supplémentation en STB. L'âge est un élément crucial quand on considère une stratégie nutritionnelle incluant des matières premières fibreuses même si globalement les performances ont été optimisées avec les aliments les plus riches en AXs., Des effets négatifs ont été observés au démarrage et en croissance lorsque les animaux n'étaient pas supplémentés avec le STB. La capacité d'analyser les AXs apparait donc un élément important puisqu'il détermine clairement la réponse en termes de performances de croissance. Indépendamment de l'âge des animaux l'utilisation du STB a permis une meilleure réponse aux AXs et, par conséquent, a amélioré les performances quelle que soit la phase de croissance. Les fibres sont souvent considérées comme un composant à limiter et c'est encore plus vrai pour la fraction soluble. Dans cet essai, nous avons mis en évidence que cela peut être vraie mais que globalement les AXs présentent un peu plus de bénéfices que de désavantages. L'utilisation de STB est un point stratégique à considérer pour améliorer l'utilisation de la fraction fibreuse de l'aliment.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AB VISTA, 2021 Technical Whitepaper « peeling back the layers of fibre for animal performance"
Apajalahti, 2005 J. Appl. Poult. Res. 14 :444-453
Ballou et al., 2016 Frontiers in Veterinary Science vol 3 – Article 2
Bautil et al.,2019 Poultry Sci. 2019 ;98 :4606-21
Cho et al., 2020 PLoS ONE 15(11)
Cordero et al.,2019 Journal of Animal Science, 97 (Sup 2) : 186
Gomes et al.,2020 Aust Poult Sci symp p54
Gonzales-Ortiz et al., 2021 Animal Nutrition Vol 7, Issue 2 488-495
Graham and Aman., 1991 P. Anim Feed Sci. Technol. 32: 143-158
Lee et al., 2017 Animal Feed Science and Technology 234: 29-42
Marinho et al 2007 Livestock Science 108 (2007) 236-239
Rousseau et al.,2021 Symposium on Gut health in production of food animals, St Louis, Missouri

Tableau 1. Composition des aliments de référence (maïs/soja) et de base (100% Haut soluble AX et 100% Bas soluble AX)

	Démarrage (1-10j)			Croissance (11-24j)			Finition (25-42j)		
Formulation g/kg	**Maïs/ Soja**	**100% Haut**	**100% Bas**	**Maïs/ Soja**	**100% Haut**	**100% Bas**	**Maïs/ Soja**	**100% Haut**	**100% Bas**
Son de blé		10,77			26,40			24,42	
Blé		674,9			618,5			641,3	
Maïs	606,7		564,8	644,3		547,6	669,5		533,9
Son de riz			30,00			34,31			50,00
Drêches de maïs			70,00			76,78			100,00
Tourteau de colza		15,00			20,00			20,00	
Tourteau de soja	348,5	221,3	282,8	301,1	241,7	275,5	271,2	203,8	240,8
Tourteau de tournesol		10,00			10,00			20,00	
Huile de soja	7,395	21,94	10,96	17,20	46,14	29,61	26,92	58,02	44,75
Carbonate	11,25	11,42	11,94	9,889	9,656	10,389	8,266	8,039	8,935
MCP	6,124	6,703	5,506	4,203	4,223	3,285	1,961	1,925	0,657
Sel	2,256	2,329	1,791	2,132	2,142	1,585	1,900	1,914	1,183
Bicarbonate de sodium	1,500	1,500	1,500	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Lysine HCl	2,459	5,494	4,069	2,250	3,166	2,612	2,010	3,083	2,372
DL Methionine	3,342	3,399	3,424	2,935	2,476	2,662	2,705	2,228	2,324
L Threonine	1,255	2,441	1,746	1,005	1,283	0,940	0,805	1,127	0,676
L Valine	0,184	1,192	0,711	0,071					
QB 5G	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150	0,150
Others	8,355	10,98	10,05	13,25	12,72	13,05	13,07	12,50	12,78
Composition calculée, % (sauf si identifié différemment)									
Protéine brute	21,9	21,5	21,4	20,0	21,3	20,7	18,7	20,0	19,8
Matière grasse	5,13	4,44	5,68	6,22	6,85	7,47	7,26	8,03	9,01
Fibre brute	2,10	2,14	2,62	2,06	2,30	2,65	2,05	2,44	2,85
PNA total	9,79	11,0	10,7	9,29	11,3	10,7	9,05	11,2	11,0
PNA Insoluble	7,26	8,13	8,29	6,99	8,42	8,33	6,83	8,42	8,64
PNA soluble	2,43	2,86	2,39	2,30	2,87	2,37	2,22	2,82	2,32
A+X Insoluble	3,40	4,33	4,10	3,41	4,41	4,12	3,42	4,48	4,37
A+X Soluble	0,40	1,28	0,40	0,34	1,27	0,40	0,31	1,27	0,39
Ca	0,86	0,86	0,86	0,76	0,76	0,76	0,65	0,65	0,65
P dispo	0,43	0,43	0,43	0,38	0,38	0,38	0,33	0,33	0,33
Na	0,18	0,18	0,18	0,16	0,16	0,16	0,15	0,15	0,15
dLys	1,23	1,23	1,23	1,10	1,10	1,10	1,01	1,01	1,01
dM+C	0,91	0,91	0,91	0,83	0,83	0,83	0,78	0,78	0,78
dThr	0,83	0,83	0,83	0,74	0,74	0,74	0,68	0,68	0,68
dVal	0,92	0,92	0,92	0,83	0,84	0,84	0,78	0,78	0,80
EMA, kcal/kg	2925	2925	2925	3025	3025	3025	3125	3125	3125

Tableau 2. Performance des animaux ayant reçu des niveaux alimentaires différents en arabinoxylanes solubles (AXs) avec ou sans supplémentation en stimbiotique (STB)

	Signis			Aliments							P-value analyse de contrastes		
	-	+	SEM	Maïs/soja	Haut AXs 100%	75% Haut+ 25% Bas	50% Haut + 50% Bas	25% Haut + 75%Bas	100% Bas	SEM	Signis	Diet	Signis*Diet
0-10d													
Poids vif, g	294^{b}	311^{a}	1.3	308^{a}	295^{c}	305^{ab}	301^{b}	302^{b}	304^{b}	1.8	<0.01	<0.01 (L***)	<0.01 (-L*** ; +L***)
GMQ g/j	24.9^{b}	26.5^{a}	0.16	26.2^{a}	25.0^{d}	25.9^{ab}	25.5^{c}	25.6^{b}	25.7^{bc}	0.2	<0.01	<0.01 (L**, Q*)	<0.01 (-L*** ; +L***)
CMJ g/j	28.7^{b}	30.1^{a}	0.14	29.6^{a}	28.7^{b}	29.7^{a}	29.4^{a}	29.4^{a}	29.6^{a}	0.2	<0.01	<0.01 (L**, Q**)	<0.01 (-L*** ; +L**)
IC g/g	1.156^{a}	1.137^{b}	0.0062	1.129^{c}	1.150^{ab}	1.144^{b}	1.156^{a}	1.150^{ab}	1.151^{ab}	0.0067	<0.01	<0.01	<0.01 (-L*** ; +L***)
0-24d													
Poids vif, g	1398^{b}	1425^{a}	3.1	1412^{bc}	1424^{ab}	1435^{a}	1415^{abc}	1399^{cd}	1385^{d}	6.6	<0.01	<0.01 (L**, Q*)	<0.01 (+L*** ; +Q**)
GMQ,g/j	56.1^{b}	57.3^{a}	0.14	56.7^{ab}	57.3^{a}	57.7^{a}	56.7^{ab}	56.1^{bc}	55.5^{c}	0.32	<0.01	<0.01 (L***)	<0.01 (+L*** ; +Q*)
CMJ, g/j	74.3^{B}	75.1^{A}	0.27	75.2	74	75.3	75	74.5	74	0.48	0.06	0.24 (Q*)	0.03 (+L** ; +Q**)
IC, g/g	1.326^{a}	1.311^{b}	0.0022	1.328^{a}	1.293^{d}	1.306^{c}	1.322^{b}	1.329^{a}	1.334^{a}	0.0028	<0.01	<0.01	<0.01 (-L*** ; -Q*** ; +L***)
0-42j													
Poids vif, g	3632^{B}	3665^{A}	13	3657^{abc}	3607^{c}	3670^{ab}	3694^{a}	3648^{abc}	3615^{bc}	21.4	0.06	0.04 (Q***)	0.08 (+Q***)
GMQ g/j	77.0^{b}	78.1^{a}	0.2	77.4	77.2	78	78.4	77.4	76.8	0.41	<0.01	0.11 (Q***)	<0.01 (+L*** ; +Q***)
CMJ g/j	118.8	119.2	0.26	118.2^{b}	116.8^{c}	119.1^{b}	121.0^{a}	119.8^{ab}	119.3^{ab}	0.55	0.45	<0.01 (L*** ; Q***)	<0.01 (-L*** ; +Q***)
IC g/g	1.543^{a}	1.526^{b}	0.003	1.527^{c}	1.512^{d}	1.526^{c}	1.542^{b}	1.547^{ab}	1.553^{a}	0.0044	<0.01	<0.01 (L*** ; Q*)	0.13 (-L*** ; +L***)
IC corrigé g/g	1.549^{a}	1.521^{b}	0.0059	1.525^{bc}	1.526^{bc}	1.520^{c}	1.529^{bc}	1.547^{ab}	1.564^{a}	0.0092	<0.01	<0.01 (L*** ; Q*)	0.06 (+L*** ; +Q***)
EPEF	541^{b}	553^{a}	5.2	558	550	543	550	542	540	8.1	0.05	0.55	0.31

Abréviations : GMQ : Gain Moyen Quotidien (g/j) ; CMJ : Consommation Moyenne Journalière (g/j) ; IC : Indice de consommation (g/g); IC corrigé : Indice de consommation corrigé par le poids (g/g); EPEF : European Production Efficiency Index. Les moyennes d'une ligne portant une/des lettre(s) différente(s) sont statistiquement différentes ($^{a-d}$ P≤0.05 ; ^{AB} 0.10 >P>0.05 and P) ; Contrastes Linéaire (L) ou quadratique (Q) avec (+) ou sans (-) Signis (*** P≤0.01; ** P≤0.05; * ≤0.10).

LA CONDUITE D'ELEVAGE DOIT-ELLE ETRE ADAPTEE EN CAS D'AJOUT DE PREBIOTIQUE A BASE DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* DANS L'ALIMENT DE POULET DE CHAIR ?

Ameni Askri[1], Paul Robin[2], Naceur M'hamdi[3], Aziza Raach-Moujahed[4], Zied Maalaoui[5], Hajer Debbabi[6]

[1]Unité de Recherche de Biodiversité & Valorisation des Ressources en Zones Montagneuses, UR17AGR14, Ecole Supérieure d'agriculture de Mateur, Université de Carthage, Tunisie.
[2]UMR SAS, INRAE, Institut Agro, 35000 Rennes, France.
[3]Unité de Recherche Ecosystèmes & Ressources Aquatiques, UR03AGRO1 ;
[4]Departement des sciences Animales, INAT, Université de Carthage, Tunisie.
[5]Arm & Hammer, Nutrition Animale, Afrique du Nord, Tunis, Tunisie
[6]Departement des IAA, UR17GR01 PATIO, INAT, Université de Carthage, Tunisie.

askria.ing@gmail.com

RÉSUMÉ

Cette étude a pour objectif de discuter l'intérêt d'adapter la conduite d'élevage dans le cas où l'ajout du prébiotique dans l'alimentation améliore les performances zootechniques. Un modèle de fonctionnement du bâtiment d'élevage a été mis en œuvre pour comparer différents scénarios de conduite de l'élevage. Un premier essai consiste à une expérimentation réalisée en conditions commerciales où 996 sujets ont été utilisés pour calibrer les paramètres du scénario de référence. Un second essai consiste à incorporer le prébiotique dans l'aliment de poulets de chair. Au total 96 poulets appartenant à la souche Arbor Acres et ont été divisés en deux lots : un lot témoin (P0) ayant reçu l'aliment de base, un lot expérimental (P1) ayant reçu l'aliment de base additionné avec le prébiotique à raison de 2g/kg durant 35 jours d'élevage. Les paramètres zootechniques ont été évalués hebdomadairement. Ces résultats ont été utilisés pour calibrer l'effet du prébiotique sur l'indice de consommation et la croissance. Les valeurs calculées de température, hygrométrie, concentration en CO2, consommation d'énergie ont été utilisées pour discuter l'intérêt de modifier la gestion d'ambiance du bâtiment. Les résultats à l'échelle animal ont montré que le meilleur scénario est quand le prébiotique a un effet simultané sur la mortalité et l'indice de consommation à l'échelle animal. Une augmentation de la consommation de gaz et une diminution de la consommation d'électricité ont été constatées lorsque le prébiotique a un effet sur l'indice de consommation. Ces consommations sont stables lorsqu'il n'agit que sur la mortalité. En conclusion, l'addition de prébiotiques pourrait avoir des effets positifs sur les paramètres de production à l'échelle bâtiment sans modification importante de la conduite d'élevage.

ABSTRACT

Should Farmers Adapt the House Management When Adding Prebiotic in Broiler Diet?

This work aimed to discuss the interest of modifying house management of broiler chicken when adding prebiotic, as a potential substitute of antibiotics in diet, improve performances. The first trial was conducted in commercial conditions 996 one-day-old broiler chicken Arbor acres were used to calibrate parameters of reference scenario. The second trial was consisted to incorporate the prebiotic in broiler diet and 96 male chicks Arbor Acres were divided in two groups: The control group was received a basal diet (P0), the experimental group received the basal diet supplemented with 2g/kg of prebiotic for 35 days (P1). Growth performance (body weight, feed intake, feed conversion ratio, and mortalities) were measured weekly. Results of trial 2 were used to calibrate the effect of prebiotic in feed conversion ratio. A model was developed for a closed poultry house. The model was simulated and simulation result was compared to the data collected experimentally for model verification and control gains estimation. Results on growth performances at animal scale showed that the best scenario is when the prebiotic has a simultaneous effect on mortality and feed conversion ratio at animal scale. An increase in gas consumption and a decrease in electricity consumption were observed when the prebiotic affects the feed conversion ratio. These consumptions are stable when it acts only on mortality. In conclusion, the addition of prebiotics could have positive effects on the production parameters at house scale without any significant change in the breeding management.

INTRODUCTION

À l'échelle animale, les progrès dans la génétique et l'alimentation des poulets de chair ont conduit à des croissances plus rapides et une meilleure efficience alimentaire (Zuidhof et al., 2014). Les prébiotiques sont des candidats prometteurs, leur utilisation comme additif alimentaire ne présente pas les risques rencontrés avec les antibiotiques facteurs de croissance (AFC) car ils n'ont pas un effet nocif tant sur la qualité des produits que sur la santé du consommateur (Perdinan et al., 2019). Ce sont des additifs alimentaires non digestibles ayant une action bénéfique sur l'hôte en stimulant de façon sélective la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries du côlon (Gibson et Roberfroid, 1995). De nombreuses études ont établi que l'enrichissement des régimes alimentaires de poulets de chair avec des prébiotiques à base de *Saccharomyces cerevisiae* peut efficacement améliorer les performances zootechniques (Askri et al., 2020).

A l'échelle du bâtiment d'élevage, les performances de mortalité, croissance et indice de consommation d'une souche bien connue peuvent varier en fonction des conditions d'élevage réalisées, notamment en fonction de la formulation alimentaire mise en œuvre et de l'hétérogénéité des conditions d'ambiance dans le bâtiment. Toutefois, peu de travaux discutent les interactions entre l'incorporation des prébiotiques, ses impacts sur les flux de masse et d'énergie et le choix des paramètres d'ambiance optimaux pour l'élevage. La modélisation thermique permet de simuler les consommations d'énergie et les conditions d'ambiance en fonction du climat et des productions de chaleur des animaux. Elle constitue ainsi un moyen de comparer des scénarios afin de mieux cibler des hypothèses à vérifier ou des préconisations à formuler (Méda, 2011). Utilisée en association avec des observations en élevage, la modélisation permet d'identifier les paramètres spécifiques du lot observé et de les utiliser pour comparer des situations d'élevages observées dans des bâtiments ou sous des climats différents. Ces comparaisons peuvent ainsi aider à formuler des préconisations de pratiques d'élevage, de bâtiment ou d'équipement en indiquant les conditions d'ambiance réalisées (température, hygrométrie, teneur en CO_2 de l'air intérieur). L'objectif de ce travail est de comparer des scénarios d'élevage en bâtiments avicole et de discuter l'intérêt d'adapter la conduite d'élevage dans le cas où l'ajout du prébiotique dans l'alimentation réduit la mortalité et améliore les performances zootechniques.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Simulation de l'effet des prébiotiques en élevage : construction de scénarios et test d'hypothèses par modélisation

Etant donné que nous ne possédons pas des mesures réelles des émissions, nous avons considéré que c'est le même "fonctionnement" que l'animal ROSS 308 et nous sommes partis du Modèle Wejden-2018 (https://doi.org/10.15454/FQO7VA) comme référence afin de calculer la production de chaleur et les différents paramètres de gestion de bâtiment pour notre scénario de référence.
Pour le modèle poulet, le gain de poids horaire GMQ (t) a été calculé en utilisant le modèle de Gompertz. La fonction utilise Age 1, Age 2, poids vif (PV) au début du lot (PV1), PV attendu à l'abattage (PV2) et indicateur de précocité en tant que paramètres. La fonction Gompertz est la plus souvent utilisée pour l'étude de la croissance des espèces avicoles (Mignon-Grasteau et Beaumont, 2000). La consommation d'aliment est déduite de la croissance en utilisant un indice de consommation constant par période. Les valeurs de l'indice et les dates de début et de fin de chaque période dépendent des valeurs observées durant les expérimentations. La consommation d'eau est déduite de la consommation d'aliment en utilisant une valeur de rapport eau/aliment pour chaque période où l'indice de consommation était constant.

1.2. 2. Choix des paramètres du modèle « poulets » des divers scénarios

a) Principes généraux

Deux hypothèses d'effet du prébiotique sont comparées à un scénario de référence :
La première consiste en la réduction de la mortalité sans changement de la croissance ni de l'indice. La seconde en la réduction de la mortalité avec amélioration de la croissance et de l'indice.
Le scénario de référence est paramétré à partir des données d'un bâtiment d'élevage commercial (996 poussins de même souche que dans nos essais ; essai dans le CFPA dans le secteur avicole).
L'effet du prébiotique sur la mortalité et sur les performances zootechniques est évalué à partir des résultats observés au cours des expérimentations. Les variables spécifiques des conditions d'élevage en cages sont remplacées par les observations en conditions commerciales (consommation d'eau, évolution des températures d'ambiance).

b) La calibration des paramètres de croissance

Le premier essai consiste à une expérimentation réalisée en conditions commerciales où 996 sujets ont été utilisés pour calibrer les paramètres du scénario de référence. Le second essai consiste à incorporer le prébiotique à base de *Saccharomyces cerevisiae* dans l'aliment de poulets de chair. Au total 96 poulets appartenant à la souche Arbor Acres ont été élevés en cage (8 poulets/ cage) et ont été divisés en deux lots : un lot témoin (P0) ayant reçu l'aliment de base, un lot expérimental (P1) ayant reçu l'aliment de base

additionné avec le prébiotique à raison de 2g/kg durant 35 jours d'élevage. Les lots P0 et P1 sont ceux retenus pour calibrer l'effet du prébiotique sur les paramètres zootechniques (croissance, indice de consommation). Le calage de ces paramètres a été effectué avec le Solveur. Le nombre de poulets de chair pour les trois lots est calculé en utilisant un taux de mortalité (% mortalité) appliqué chaque journée à l'effectif en cours. Ce modèle n'utilise comme entrée que le nombre de poussins initial (au début du lot).
Deux coefficients de mortalité ont été calés : de 0-10 jours mort 1, du 11éme jours jusqu'à la fin du lot : mort 2. Pour le calage, c'est l'effectif observé qui a été utilisé. Les paramètres de la courbe de croissance ont été calés sur les mesures de poids vif à différents âges pour chaque lot. Les indices de consommations ont été calés par période. La prise alimentaire est calculée en fonction de l'indice de consommation calculé à chaque pas de temps et du gain de poids entre deux pas de temps. Les valeurs d'indice calibrées sont légèrement différentes des valeurs observées. En effet les valeurs observées par période résultent à la fois de l'indice de consommation des animaux et de la mortalité observée au cours de chaque période.

1.2. 3. Choix des paramètres du modèle « bâtiment » des divers scénarios

Le même bâtiment (isolation, ventilation) et le même climat ont été utilisés pour tous les scénarios. La surface choisie pour le bâtiment est de 500 m² comme un grand nombre de bâtiments en Tunisie.
Deux hypothèses de mise en place du troupeau dans le bâtiment :

- densité animale de l'élevage de référence (conduisant à 40 kg poids vif/m² bâtiment au moment de l'abattage) pour les trois scénarios « poulets » (avec ou sans effet du prébiotique sur la mortalité, l'indice de consommation, la croissance) ;
- densité animale initiale choisie pour avoir la même production de poids vif de poulets par bâtiment en fin de lot (densité animale initiale adaptée aux choix de mortalité, indice de consommation, croissance en sorte d'avoir 40 kg poids vif/m² bâtiment au moment de l'abattage).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats sur les paramètres de croissance

Nous pouvons constater que les meilleurs scénarios pour l'indice de consommation à l'échelle du lot sont ceux quand le prébiotique a un effet simultané sur la mortalité et l'indice de consommation à l'échelle animal (Tableau 1). En effet, une réduction de 7.04% d'indice de consommation a été constatée où l'indice passe de 1.819 à 1.674 kg d'aliment kg-1 PV (respectivement M+IC+D+ et M-IC-D+). Également, lorsque le prébiotique a un effet significatif sur la mortalité, l'indice de consommation et la densité initiale est adaptée pour obtenir le poids vif souhaité, une diminution de 7.04% de l'indice de consommation a été enregistrée. De même, une réduction de 7.02% a été enregistrée en cas d'effet sur l'indice de consommation. Toutefois, l'effet de prébiotique sur la mortalité avec ou sans adaptation de densité initiale n'a pas permis d'obtenir des résultats intéressants sur l'indice de consommation où une réduction de 0.6% a été enregistrée. Concernant, la quantité d'aliment consommé au cours du lot, une diminution d'environ 7% par rapport au scénario de référence a été enregistrée quand le prébiotique a un effet positif sur la mortalité, l'indice de consommation et que le nombre initial est adapté pour avoir 40 kg m^{-2}. Par ailleurs, lorsque le prébiotique a un effet sur l'indice de consommation uniquement, une réduction de 6.31% a été enregistrée (M+IC-D+). En cas d'effet de prébiotique sur la mortalité et l'indice de consommation, une réduction de 3,58% a été enregistrée (M-IC-D+). Nonobstant, une augmentation de 2.95% de la quantité d'aliment ingérée a été observée en cas d'effet uniquement sur la mortalité (M-IC+D+).
Les effets sur les quantités d'eau de boisson sont identiques à ceux de l'aliment en raison de l'hypothèse d'un rapport eau aliment identique.

Résultats sur les consommations d'énergie

On constate une faible augmentation de la consommation de gaz et une diminution de la consommation d'électricité, respectivement +3 et -8 %, lorsque le prébiotique a un effet sur l'indice de consommation (IC-) (Tableau 1). En revanche, ces consommations sont stables lorsqu'il n'agit que sur la mortalité. Ces variations sont expliquées par les combinaisons d'une diminution de la ventilation en situation exothermique et d'une augmentation du chauffage lorsqu'on est en situation endothermique par rapport à l'élevage de référence.
Lors des situations exothermiques, l'augmentation de la ventilation est due à la production de chaleur des animaux. Celle-ci est plus élevée en l'absence du prébiotique en raison d'un indice de consommation plus élevé. En conséquence les scénarios IC- requièrent une ventilation plus faible, à chargement équivalent, que les scénarios IC+. La diminution de la ventilation dans les périodes exothermiques explique la baisse de consommation électrique des scénarios IC-.
L'augmentation de la ventilation en cas d'apport du prébiotique est due à la croissance plus rapide des animaux (scénarios IC-) et/ou à la diminution de la mortalité (scénarios M-). Chacun de ces effets conduit, à une même date, à un chargement en kg PV/m² plus élevé. La température de consigne étant la même pour tous les lots, une ventilation plus élevée conduit à une perte de chaleur par convection supérieure.
L'augmentation du chauffage en cas d'apport du prébiotique apparaît lorsque l'augmentation de la perte de chaleur par convection n'est pas compensée

par une production de chaleur plus élevée par les animaux. Lorsque l'apport du prébiotique entraîne une baisse de l'indice de consommation (scénarios IC-), la production de chaleur par kg PV diminue. C'est pourquoi on constate une augmentation des consommations de gaz des scénarios IC-.

CONCLUSION

En conclusion, l'addition de prébiotiques pourrait avoir des effets positifs sur les paramètres de production à l'échelle bâtiment particulièrement quand le prébiotique a un effet simultané sur la mortalité et l'indice de consommation à l'échelle animal. Ces effets ne requièrent pas de modification importante au niveau de la conduite d'élevage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Askri A., Raach-Moujahed A., M'hamdi N., Maalaoui Z., Debbabi H. 2020. Broiler's performance and carcass characteristics improvement by prebiotic supplementation. Large Animal Review., 26(5), 249-256.

Gibson G. R and Roberfroid M. D. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J. Nutr. 125:1401 – –1412.

Meda B., Hassouna M., Fléchard C., Lecomte M., Germain K., Picard S., Cellier P., Robin P. 2011. Housing emissions of NH4 , N2O and CH4 and outdoor emissions of CH4 and N2O from organic broilers. In J.Kofer & H. Schobesberger (Eds.) , Proceeding of the XVth International Congress of the International Society for Animal Hygiene (pp.215-218). Tribun, EU.

Mignon-Grasteau S., Beaumont C. 2000. Les courbes de croissance chez les oiseaux. INRAE Productions Animales, 13(5), 337–348.

Perdinan A., Wahyuni H. I., & Suthama, N. (2019). Body Resistance and Growth Performance of Broiler Fed Glucomannan Extracted from Amorphophallus onchophyllus Tuber. Tropical Animal Science Journal, 42(1), 33-38.

Zuidhof M.J., Schneider B.L., Carney V.L., Korver D.R., Robinson F.E., 2014. Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. Poultry Science., 93(12), 2970-2982.

Tableau 1. Résultats des différents scénarios sur les paramètres zootechniques et les consommations d'énergie

	M+IC+D+	M-IC+D+	M-IC-D+	M-IC+D-	M-IC-D-	M+IC-D+	M+IC-D-	M+IC+D-
Mortalité (%)	7,60	4,28	4,22	4,33	4,28	7,50	7,34	7,44
Jours d'élevage	35,5	35,5	34,3	35,5	34,3	34,3	34,3	35,5
IC (%)	-	-0,63	-7,04	-0,61	-7,02	-6,47	-6,54	-0,08
Aliment (%)	-	2,95	-3,58	-0,61	-7,01	-6,31	-9,53	-3,32
Eau de boisson (%)	-	2,93	-3,45	-0,62	-6,89	-6,17	-9,40	-3,32
Conso gaz (%)	-	0,14	2,69	-0,29	2,62	2,82	2,71	-0,38
Conso électrique (%)	-	0,93	-5,88	-0,17	-6,89	-6,69	-7,69	-1,04

M : mortalité ; IC : indice de consommation ; D : densité ; (+) indique que la modalité est identique à celle de l'élevage de référence ; (-) indique que la modalité est modifiée par rapport à celle de l'élevage de référence

IMPACT DES EXTRAITS VEGETAUX A BASE DE CARVACROL SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE DES POULETS DE CHAIR ; APPROCHE PAR META-ANALYSE

Julien Labarre[1,2], Joana Idiart[1], Jean-François Gabarrou[2], Marie-Pierre Létourneau Montminy[1]

[1] *DEPARTEMENT DES SCIENCES ANIMALES, Université Laval, Quebec City, G1V0A6, QUEBEC, CANADA*
[2] PHODE Animal Care, ZI Albipôle, 81150 TERSSAC, FRANCE
Marie-pierre.letourneau@fsaa.ulaval.ca

RÉSUMÉ
Les extraits de plantes ont largement été étudiés comme facteur de croissance, mais l'irrégularité de leurs effets leur est encore souvent reprochée. Afin de quantifier les effets des extraits à base de carvacrol, sur les performances de croissance et d'identifier les facteurs qui les modulent une méta-analyse a été réalisée. La base de données (BDD) exhaustive a été scindée en deux : BDD faibles doses (moins de 50 g/t de carvacrol ; 23 publications) et BDD fortes doses allant jusqu'à 600 g/t; 16 publications). Ces bases contenaient différents types de produits à base de carvacrol : huile essentielle d'origan (HEo), mélanges d'huiles essentielles (HE), carvacrol synthétique (CS) et carvacrol synthétique avec ajout d'extraits d'épices (CS+). Des modèles de régressions linéaires multiples ont été utilisés pour étudier la réponse des poulets en termes de : gain moyen quotidien (GMQ), consommation moyenne journalière (CMJ) et indice de conversion (IC) exprimés en pourcentage du témoin. Dans la BDD faibles doses, la réponse au carvacrol dépend du type de produits (CodeExtraits x DoseCarvacrol, $P < 0,001$). Le GMQ augmentent avec l'ajout de carvacrol davantage dans le groupe CS+ (9%), suivi de HEo (7%), HE (5%) et CS (3%). La CMJ n'est pas modifiée pour CS+ et HEo, alors qu'elle augmente de 3 et 4% pour CS et HE. La réponse au carvacrol dépend également du niveau d'apport de lysine digestible par rapport au besoin (CodeLys x DoseCarvacrol, $P < 0,001$) montrant une réponse plus importante à 90% du besoin. L'IC diminue linéairement avec la dose de Carvacrol ($P < 0,001$). Dans la BDD forte dose, on observe un effet linéaire et quadratique de la dose de Carvacrol montrant pour le GMQ une augmentation d'environ 5% suivie d'une diminution et d'un plateau autour de 2% et l'inverse pour la CMJ et l'IC. Ces résultats confirment un effet positif du carvacrol sur les performances de croissance et des facteurs de modulation sont identifiés.

ABSTRACT
Effect of the origin of carvacrol from different plant extracts in broilers; a meta-analysis
Plant extracts have been widely studied as a growth factor, but the irregularity of their effects is still often criticized. In order to quantify the effects of carvacrol-based extracts on growth performance and to identify the factors which modulate them, a meta-analysis was carried out. The comprehensive database (DB) was split in two: DB of low doses (less than 50 g/t carvacrol; 23 publications) and DB of high doses up to 600 g/t; 16 publications). These databases contained different types of carvacrol products: oregano essential oil (HEo), essential oil blends (HE), synthetic carvacrol (CS), and synthetic carvacrol with spice extracts added (CS+). Multiple linear regression models were used to study the response of the chickens in terms of: average daily gain (ADG), average daily consumption (ADFI) and conversion index (FCR) expressed as a percentage of the control. In the low-dose BDD, the response to carvacrol was dependent on the type of product (ExtractCode x CarvacrolDose, $P < 0.001$). ADG increased with the addition of carvacrol more in the CS+ group (9%), followed by HEo (7%), HE (5%) and CS (3%). The ADFI is not changed for CS+ and HEo, while it increases by 3 and 4% for CS and HE. The response to carvacrol also depends on the level of digestible lysine intake relative to requirement (CodeLys x DoseCarvacrol, $P<0.001$) showing a greater response at 90% of requirement. CI decreased linearly with Carvacrol dose ($P<0.001$). In the high dose DB, a quadratic effect of Carvacrol dose on ADG and ADFI was observed ($P<0.001$) showing for ADG an increase of about 5% followed by a decrease and a plateau around 2% and the opposite for ADFI and FCR. These results confirm a positive effect of carvacrol on growth performance and modulating factors are identified.

INTRODUCTION

Après l'interdiction de l'utilisation des antibiotiques dans les aliments et en prophylaxie, de nombreuses alternatives ont été proposées et sont aujourd'hui utilisées. Parmi celles-ci, les phytogéniques sont un groupe d'additifs alimentaires naturels dérivés d'herbes, d'épices ou de plantes (Hashemi et Davoodi, 2010). Ils sont utilisés en nutrition animale, notamment pour leur activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, antioxydante et antiparasitaire (Zeng et al., 2015). Ils peuvent être divisés en différentes catégories soient les herbes, les épices, les huiles essentielles et les oléorésines qui sont des extraits dérivés de solvants non aqueux (Windisch et al., 2008). Les extraits de plantes ont largement été étudiés et utilisés pour leurs effets sur les performances zootechniques chez la volaille (Brenes et Roura, 2010; Alleman et al., 2013). Si leurs bénéfices sont aujourd'hui reconnus, l'irrégularité de leurs effets leur est encore souvent reprochée. La revue d'Alleman et al., (2013) fait état d'effets contrastés de l'huile de thym sur la croissance des poulets avec des effets positifs sur la consommation journalière (CMJ), le gain moyen quotidien (GMQ) et l'indice de conversion IC), d'autres seulement sur certains de ces critères et d'autres auteurs ont même trouvé des effets négatifs. De nombreux facteurs peuvent expliquer ces variations et ces derniers ne sont pas nécessairement en lien avec le produit lui-même.

L'objectif de la présente étude était d'étudier la réponse des poulets à l'huile essentielle d'origan dont le principe actif est le carvacrol. L'outil de méta-analyse qui permet de généraliser des lois de réponse et d'identifier des facteurs de modulation (Sauvant et al., 2008) a été utilisé afin de quantifier les effets du carvacrol, en pur, ou dans un mélange plus complexe, en termes de performances de croissance et d'identifier les facteurs qui les modulent.

1.MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1 Construction de la base de données et séparation

La base de données est constituée de tous les articles publiés entre 2002 et 2019 traitant de l'effet d'additifs alimentaires à base de carvacrol sur les performances des poulets de chair à croissance rapide entre 1 et 42 jours d'âge. Les articles ont été sélectionnés à partir des mots-clés « Poulet », « Huile essentielle », « Origan ». Les critères d'admissibilité étaient 1) disponibilité des informations sur la composition des aliments, 2) étude chez des poulets à croissance rapide, 3) disponibilité des données de performance, 4) information sur le produit permettant de calculer la teneur en carvacrol et thymol et 5) performance du témoin à au moins 60% du gain attendu selon les guides de performances des sélectionneurs (Cobb 500, Ross 308). Les publications rapportant plusieurs expériences (en cages et au sol) ou phases de croissance ont été traitées en attribuant un code spécifique à chacun. Chaque observation correspondait à la moyenne d'un groupe de traitement.

La base de données (BDD) a été scindées en deux : BDD des faibles doses (moins de 50 g/t de carvacrol ; 23 publications) et BDD des fortes doses allant jusqu'à 600 g/t (16 publications). Ces bases contenaient différents types de produits à base de carvacrol (**CodeExtrait**) : huile essentielle d'origan (**HEo**), mélanges d'huiles essentielles (**HE**), carvacrol synthétique (**CS**) et carvacrol synthétique avec ajout d'extraits d'épices (**CS+**). La BDD fortes doses se composant majoritairement (>60%) de HEo, seul ce produit a été étudié.

1.2 Calcul des doses de carvacrol et données alimentaires

Les concentrations en carvacrol et en thymol de chaque additif utilisé dans les articles ont été calculées sur la base des informations données par les auteurs, afin de pouvoir comparer les articles entre eux sur la base des concentrations d'actifs. Pour assurer la cohérence de la base de données et bien comparer les articles entre eux, tous les nutriments dont les teneurs en énergie, acide aminés digestibles et protéine brute dans l'aliment complet ont été estimés à partir de la liste des ingrédients à partir des tables INRA 2018 (INRA CIRAD AFZ, 2018). À la suite du recalcul, 3 publications ont été écartées, compte tenu de leurs ratios acides aminées sur lysine, anormalement faibles ou élevés par rapport aux recommandations (Rostagno, 2017).

Dans certains articles, la consommation d'aliment n'était pas rapportée et a donc été calculée via le rapport GMQ sur IC. Lorsqu'un contrôle positif (C+) avec un antibiotique facteur de croissance et un contrôle négatif (C-) sans antibiotique étaient présents dans un même article, le ratio des deux (**C+/C-**) a été calculé comme le Challenge Acuity Index (Létourneau-Montmniy et Alfonso-Avila, 2020). Les apports de lysine digestible ont été codés en 3 classes (**CodeLys**): < 90% besoin, 90 à 110% des besoins et > 110% des besoins.

1.3 Analyse du méta-design et statistiques

Les statistiques descriptives des variables sélectionnées sont présentées dans les tableaux 1 et 2. Une étude du méta-dispositif a été conduite graphiquement sur les variables indépendantes prises deux à deux. Cette analyse graphique a permis de caractériser la variation des données et aussi de détecter les valeurs aberrantes (Sauvant et al., 2008). Une analyse intra- et inter- expériences a été menée sur les variables réponses 1) GMQ, 2) CMJ et 3) IC en fonction de la variable principale carvacrol. L'ensemble de ces étapes ont été réalisés sur les deux bases étudiées.

Des modèles de régressions linéaires multiples ont été utilisés pour étudier la réponse des poulets en termes de : GMQ, CMJ et IC exprimées en pourcentage du

témoin à l'aide de la procédure mixte du logiciel Minitab (2019). Les variables C+/C- et DoseCarvacrol ont été testées en effet continu et CodeExtrait et CodeLys ont été testés en effet fixe et l'effet essai en effet aléatoire.

2.RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1 Des faibles doses suffisent pour obtenir une réponse

Dans la base qui contient des faibles doses, la réponse au carvacrol dépendait du type de produits (CodeExtraits x DoseCarvacrol, P<0,001 ; Tableau 3). Le GMQ augmentait avec l'ajout de carvacrol, mais il augmentait davantage dans le groupe CS+ (9% ; Figure 1), suivi de HEo (7%), HE (5%) et CS (+3%). La CMJ qui n'était pas modifiée pour CS+ et HEo, alors qu'elle augmentait de 3 et 4% pour CS et HE. La réponse au carvacrol dépendait également du niveau d'apport de lysine digestible par rapport au besoin (CodeLys x DoseCarvacrol, P<0,001) montrant une réponse plus importante à 90% du besoin et moins. L'IC diminuait linéairement avec la dose de Carvacrol (P<0,001 ; IC = 100 – 0.094 DoseCarvacrol ; Erreur type résiduelle (ETR) = 2.28 ; R^2 = 47.9%) sans effet de CodeLys ou CodeExtrait. Cet effet pourrait être dû notamment à l'amélioration de la digestibilité de certains nutriments (Su et al., 2021 ; Zeng et al., 2015). Il est également intéressant de noter que les effets plus importants de CS+ se produisent avec des doses beaucoup plus faibles que pour les autres produits (Figure 1) semblant indiquer un effet boost des épices sur le carvacrol. À notre connaissance, aucune donnée sur la synergie des épices et du carvacrol n'est disponible dans la littérature, bien que les effets des deux extraits aient été montrés en termes de performances de croissance chez le poulet (Dhama et al., 2014). L'augmentation linéaire observée ici doit être mise en relation avec le fait que beaucoup des articles intégrés à cette base de données ne comportent qu'un témoin et un essai.

Dans un second modèle, nous avons caractérisé la réponse au carvacrol des poulets en fonction du Challenge Acuity Index. Le GMQ augmentait plus fortement lorsque le rapport C+/C- diminuait (C+/C- x DoseCarvacrol, P<0,001). L'interaction carvacrol avec le challenge acuity index n'a pas été trouvé sur les variables de réponse CMJ et IC. Ce résultat sur le GMQ indique que dans des conditions de challenge, les animaux vont mieux répondre à l'apport de carvacrol. Ceci a préalablement été montré chez des porc élevés en extérieur ou en intérieur où les effets positifs sur les performances de croissance étaient présents qu'en extérieur en raison conditions de challenge plus importantes (Forte et al., 2016). Ceci serait le résultat d'un statut oxydant plus élevé et possiblement d'effet sur la réponse immunitaire (Zeng et al., 2015).

2.2 Une réponse quadratique des fortes doses d'huile essentielle de carvacrol

Dans la BDD forte dose, en raison du design déséquilibré, le modèle a été établi en intégrant seulement les huiles essentielles d'origan. Pour les trois critères de performances, les effets sont linéaires (P<0.05) et quadratiques (P<0.001) sauf pour la CMJ où on avait qu'une tendance quadratique (P=0.06). On observe une augmentation jusqu'à 4,1 points de % du GMQ atteinte autour de 200 g/t avec une stabilisation et une légère diminution (Figure 2). La CMJ évoluait de façon inverse, diminue linéairement jusqu'à 2.4 points de % autour de 300 g/t pour ensuite réaugmenter légèrement. L'IC, diminuait linéairement avec l'apport de carvacrol avec un effet maximal de 6,8 points de % autour de 300 g/t et remontait légèrement ensuite. De tels effets quadratiques ont préalablement été rapportés (Su et al., 2021), mais les causes demeurent à déterminer.

CONCLUSION

Le carvacrol montre une efficacité à différente doses, 2 stratégies peuvent être appliqués : une première à faible dose et une deuxième avec des doses plus élevées. L'ensemble des facteurs qui conduisent à un effet positif du carvacrol ne sont pas connus après cette méta-analyse mais de nouveaux éléments sont apportés comme l'effet additif de plusieurs substances ou encore une meilleure réponse dans état challengé. Cette revue quantitative montre également que le carvacrol améliore les performances de croissance du poulet et que cette réponse dépend de plusieurs paramètres. A faible dose, il est possible de booster cet effet en complexifiant l'environnement du carvacrol par exemple en ajoutant d'autres HE et des épices. A forte dose, on observe une réponse en cloche rapporté pour ce type d'actif. Cette réponse montre la nécessité de bien connaitre les dosages afin de ne pas avoir d'effet délétère et pourrait expliquer en partie des réponses non consistantes des poulets aux produits à base d'HE d'origan. Enfin, c'est lorsque les conditions d'élevage sont challengeantes pour l'animal que le carvacrol donne les meilleures réponses. Les mécanismes conduisant le carvacrol à de tels effets restent mal connus. La protection contre l'oxydation ainsi que contre l'inflammation sont des pistes à explorer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alleman F., 2013. INRA Prod. Anim. (26), 3–12
Brenes A. 2010. Anim. Feed Sci. Tech. (158):1–14.
Dhama K., 2014. Int. J. Pharma. (10), 129-159.

Forte C., 2017. Anim. Phy. Anim. Nutr. (101), e352-e359
Hashemi S. R., 2010. J Anim. Vet. Adv. (9), 2295–2304.
INRA-CIRAD-AFZ Feed Tables, 2018. www.feedtables.com
Létourneau-Montminy M.P. 2020. ANCC meeting proceeding.
Rostagno, 2017. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos
Sauvant D., 2008. Anim. (2,) 203-1214.
Su G. 2021. Poult. Sci. 100:101242.
Windisch W., 2008. J. Anim. Sci. (86), E140-E148.
Zeng Z. 2016. J. Anim. Sci. Biotech. (6), 7-17

Tableau 1 : Statistiques descriptives de la base de données faibles doses

	n	Moyennes	Ecart-Type	Minimum	Maximum
GMQ (%témoin sans carvacrol)	120	101,37	3,89	93,04	117,67
CMJ (%témoin sans carvacrol)	120	100,35	2,91	93,05	115,52
IC (%témoin sans carvacrol)	120	99,159	2,833	89,61	107,471
Carvacrol (g/t)	142	7,772	9,913	0	36
Lysine digestible (g/j)	142	0,98	0,42	0,33	2,23
Protéine Brute (%)	142	19,18	1,498	15,42	23,99
C+/C- ADG	76	100,97	4,94	93,15	114,73

Tableau 2 : Statistiques descriptives de la base forte dose

Variable	*n*	Moyennes	Ecart-Type	Minimum	Maximum
GMQ (%témoin sans carvacrol)	119	102,19	4,13	93,04	115,00
CMJ (%témoin sans carvacrol)	119	99,11	4,32	85,65	111,07
IC (%témoin sans carvacrol)	119	96,93	5,36	80,31	113,33
DoseCarvacrol (g/T)	140	80,8	112,3	0	402
Lysine digestible (g/j)	140	1,12	0,49	0,19	2,33
Protéine Brute (%)	140	20,34	1,55	16,01	23,53

Tableau 3 : Réponse du gain moyen quotidien et de la consommation moyenne journalière à la teneur en carvacrol, l'apport de lysine et le type de produit contenant du carvacrol.

CodeLys	CodeExtrait	Gain moyen quotidien, g/j	Consommation moyenne journalière, g/j
moins 90%	HE	99,3 + 0,391 X[1]	100,6+ 0,174 X
90 à 110%	HE	100,1 + 0,167 X	99,9 + 0,039 X
plus 110%	HE	100,1 + 0,365 X	100,5 + 0,014 X
moins 90%	HEo	99,0 + 0,203 X	100,3 + 0,019 X
90 à 110%	HEo	99,8 - 0,021 X	99,5 - 0,116 X
plus 110%	HEo	99,9 + 0,177 X	100,2 - 0,012 X
moins 90%	CS	99,2 + 0,181 X	100,4 + 0,092 X
90 à 110%	CS	100 - 0,043 X	99,7 - 0,042 X
plus 110%	CS	100,1 + 0,155 X	100,3 + 0,062 X
moins 90%	CS+	98,5 + 1,033 X	100,6 - 0,070 X
90 à 110%	CS+	99,3 + 0,809 X	99,8 - 0,205 X
plus 110%	CS+	99,4 + 1,007 X	100,5 -0,101 X
DoseCarvacrol		***	NS
CodeExtrait		NS	NS
CodeLys		NS	NS
DoseCarvacrol x CodeLys		***	*
DoseCarvacrol x CodeLys		***	*
RMSE		2.89	1.95

R2	56.7	46.5

[1]X correspond à la dose de carvacrol

Tableau 4 : Ajustement de la réponse du gain moyen quotidien en fonction de la teneur en carvacrol et le ratio C+/C-.

	Coefficient	Écart-type	*P*-value
Constante	104,84	8,84	***
DoseCarvacrol	-2,55	0,53	***
C+/C-	-0,05	0,08	‡
C+/C- x DoseCarvacrol	0,026	0,005	***
R^2(%)		70,8	
ETR, g/j		1,84	

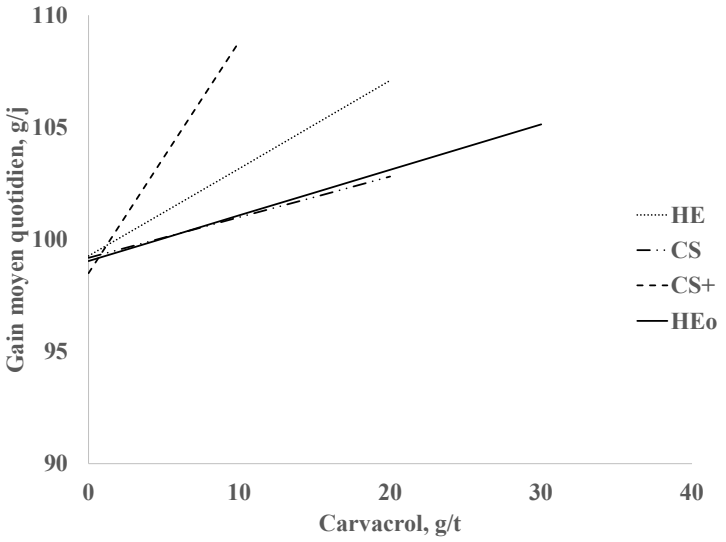


Figure 1. Réponse du gain moyen quotidien à l'apport de carvacrol chez le poulet

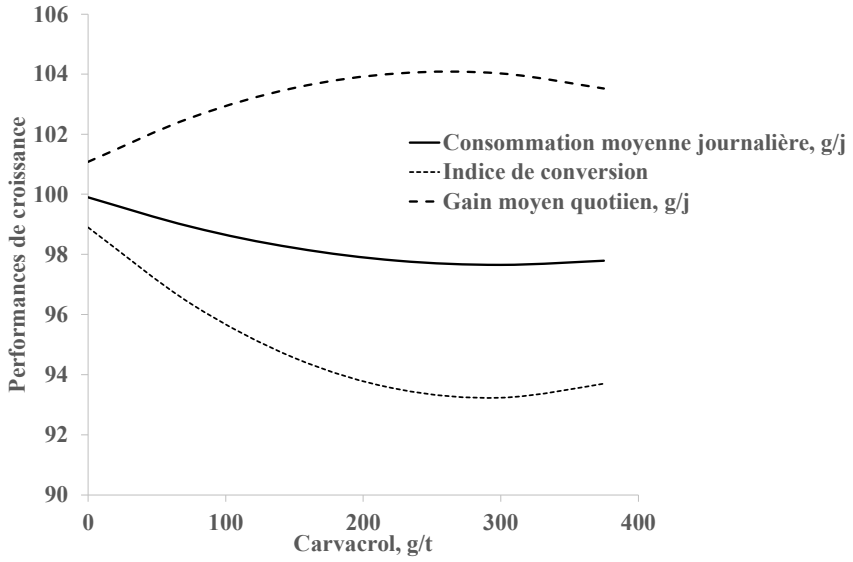


Figure 2. Réponse des performances de croissance à l'apport de carvacrol chez le poulet

LA SUPPLEMENTATION DE BIOFACTEURS PROTEGES SUR DES PERFORMANCES DES POULETS DE CHAIR SOUMIS A UN STRESS PRECOCE

L. Lahaye[1], C. Bortoluzzi[1], F. Perry[2], A. Cottin-Tillon[3], S. Benaben[3], E. Landeau[3], R. Arsenault[2], D. Korver[4], M. Kogut[5] et E. Santin[1]

[1]Jefo Nutrition, 5020 avenue Jefo, St Hyacinthe, QC, J2S7B6, Canada
[2]Department of Animal and Food Sciences, University of Delaware, DE, USA
[3]Jefo Europe, 2 rue Claude Chappe, 44481 Carquefou, France
[4]University of Alberta, Edmonton, AB, Canada
[5]USDA-ARS, Southern Plains Agricultural Research Center, College Station, TX, USA
sbenaben@jefo.ca

RÉSUMÉ

Les stress en début de vie peuvent avoir des effets négatifs sur les performances et la santé des poulets. Limiter l'impact de ces stress par une nutrition adaptée pourrait ainsi être bénéfique. L'objectif de cette étude était d'évaluer la supplémentation alimentaire d'un complexe de biofacteurs protégés (vitamines et extraits de fermentation) sur les performances de poulets de chair soumis à des facteurs de stress en début de vie. L'essai s'est déroulé au Centre d'Innovation et de Recherche en Alimentation Animale de Jefo (St-Hyacinthe, Canada) sur une durée de 35 jours. 720 poussins mâles d'un jour (Ross 308) ont été répartis en 2 traitements alimentaires avec 12 répétitions de 30 oiseaux par traitement. Les traitements consistaient en une supplémentation ou non entre 1 et 14 jours d'un complexe de biofacteurs protégés à raison de 150g/tonne d'aliment. De surcroit, tous les poussins étaient soumis à deux stress, un stress vaccinal par double vaccination contre le virus de la bronchite infectieuse administrée au couvoir, et un stress thermique au jour 3 avec une exposition de 48 heures à 20-23°C. Les consommations et les poids ont été relevés toutes les semaines. Des échantillons de poumon et de foie ont été prélevés aux jours 7 et 15 pour mesurer l'expression de gènes de marqueurs de l'inflammation et du sérum au jour 15 pour établir le statut antioxydant et la réponse immunitaire. Les données ont été soumises à une ANOVA. La supplémentation a amélioré significativement le gain de poids (+3,8%) et l'indice de consommation (-1,2%) sur la période 1-21 jours. Cet effet se confirme sur la période totale avec une augmentation significative du gain de poids (+4.1%) et une tendance à la diminution de l'indice de consommation (-2,3%). L'expression des gènes codant pour des marqueurs de l'inflammation, la réponse immunitaire à la vaccination et le statut antioxydant des poulets sont également significativement modifiés pendant et/ou consécutivement à la période de supplémentation. Cet essai démontre un effet positif d'une supplémentation précoce en biofacteurs protégés tant sur les performances de croissance que sur la santé de poulets soumis à des stress en début de vie.

ABSTRACT

A protected complex of biofactors and antioxidants improved growth performance and modulated the immunometabolic phenotype of broiler chickens undergoing early life stress

Early life stresses can have negative effects on the performance and health of chickens. Limiting the impact of these stresses through appropriate nutrition could thus be beneficial. The objective of this study was to evaluate the dietary supplementation of a complex of protected biofactors (vitamins and fermentation extracts) on the performance of broilers subjected to early life stress factors. The trial took place at Jefo Animal Feed Research and Innovation Center (St-Hyacinthe, Canada) over a period of 35 days. 720 male day-old chicks (Ross 308) were distributed into 2 groups with 12 replicates of 30 birds per group. The treatments consisted of supplementation or not between 1 and 14 days of a complex of protected biofactors at 150g/tonne of feed. In addition, all the chicks were subjected to two stresses, a vaccinal stress with a double vaccination against the infectious bronchitis virus administered at the hatchery, and a heat stress on day 3 with an exposure of 48 hours at 20-23 °C. Feed intake and weights were recorded every week. Lung and liver samples were taken on days 7 and 15 to measure inflammation gene expression and serum on day 15 to establish antioxidant status and immune response. Data were submitted to ANOVA. The supplementation significantly improved weight gain (+ 3.8%) and feed consumption index (-1.2%) over the period 1-21 days. This effect is confirmed over the entire period with a significant increase in weight gain (+ 4.1%) and a tendency to decrease feed consumption index (- 2.3%). The expression of genes encoding for markers of inflammation, the immune response to vaccination and the antioxidant status of chickens were also significantly altered during and / or subsequently to the supplementation period. This trial demonstrates a positive effect of early supplementation with protected biofactors both on growth performance and on the health of chickens subjected to early life stress.

INTRODUCTION

Les stress de début de vie comme le stress thermique peuvent avoir des impacts négatifs sur les performances des poulets de chair (Su et al., 2020) mais aussi sur le développement du système immunitaire (Zhang et al., 2011 ; Zhao et al., 2013). Le stress dû au froid peut augmenter la sensibilité aux maladies respiratoires telles que la bronchite infectieuse aviaire (BI) qui affecte les voies respiratoires supérieures des poulets. Un déséquilibre entre les systèmes pro et antioxydant du corps est susceptible d'endommager les composants cellulaires (Estévez, 2015), y compris les cellules immunitaires, et ainsi altérer le fonctionnement de la réponse immunitaire. La supplémentation alimentaire en antioxydants, tels que la vitamine E et d'autres biofacteurs tels que des métabolites d'hydrolysat de cellules de levure, peut améliorer les performances de croissance et protéger les cellules des radicaux libres (Ghazi Harsini et al., 2012) qui sont générés naturellement en raison de la réponse immunitaire, ou exacerbés dans des situations de stress. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact d'une supplémentation alimentaire en biofacteurs protégés (vitamines et extraits de fermentation) P(BF) sur les performances de croissance, l'activité antioxydante, l'expression de gènes liés au système immunitaire et le phénotype immunométabolique du jéjunum et du foie de poulets de chair soumis à un stress précoce.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

L'expérience menée à la station expérimentale de Jefo Nutrition Inc. (St-Hyacinthe, Qc, Canada) sur 720 poulets mâles Ross 308 âgés d'un jour, vaccinés contre la maladie de Marek (HVT) consistait en un design aléatoire complet avec deux traitements : un aliment supplémenté ou non de 150 mg/kg de biofacteurs protégés P(BF) constitué d'un mélange de vitamines (incluant vitamines A, D3, E, K3, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12) et d'extraits de fermentation (des genres *Bacillus* et *Aspergillus*) microencapsulés dans une matrice d'huile végétale hydrogénée (Jefo Nutrition Inc., St-Hyacinthe, Qc, Canada) distribué pendant les 14 premiers jours d'âge d'un programme d'alimentation (farine sur base maïs-soja) divisé en deux phases : démarrage (0-14) et croissance (14-35 jours). Tous les oiseaux étaient nourris par la suite avec le régime non supplémenté entre 14 et 35 jours d'âge. Chaque traitement comprenait 12 enclos répétés avec 30 oiseaux chacun.

1.2. Challenges

A j0, les oiseaux ont reçu au couvoir une double dose de vaccin vivant contre la bronchite infectieuse (MILDVAC-Ma5) par pulvérisation. De plus, à j3, tous les poulets ont été soumis à une réduction de la température ambiante de 32°C à 20°C (12°C sous la température de thermoneutralité) pendant 48 h.

1.3. Données collectées

Performances de croissance

Le poids corporel (PC) et la consommation alimentaire (CA) par enclos ont été enregistrés hebdomadairement pour le calcul de gain de poids corporel (GPC) et de l'indice de consommation (IC).

Échantillons

À j7 et j15, un oiseau par enclos a été sélectionné au hasard, euthanasié par dislocation cervicale et des échantillons de sérum, de foie, de poumon, de jéjunum et d'iléon ont été prélevés afin d'évaluer le statut antioxydant et l'expression des gènes liés au système immunitaire. Le jéjunum et le foie des oiseaux à j15 ont été soumis à l'analyse des kinases.

Marqueurs de stress oxydatif

Les échantillons de sérum à j7 et j15 ont été analysés pour les biomarqueurs de stress oxydatif, malondialdehyde (MDA), les activités de la glutathione peroxydase (GPx) et de la glutathione réductase (GR) par kits de dosage colorimétrique (Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI). La GR n'a été analysée qu'à j15 par manque de sérum obtenu à j7.

Expression génique

Les poumons, le foie, le jéjunum et l'iléon ont été évalués pour l'expression de gènes liés au système immunitaire selon Kogut et Arsenault (2015). Le tissu pulmonaire a été analysé pour l'expression des gènes IL-10, IL-1β et IFN-γ. Le foie, le jéjunum et l'iléon ont été testés pour les gènes IL-6 et IL-10.

Analyse du Kinome

Les tissus collectés ont été immédiatement congelés dans de l'azote liquide pour préserver l'activité enzymatique de la kinase et stockés à -80°C. Le kinome (peptide array) a été réalisé comme décrit par Arsenault et al. (2017).

Analyse Statistique

Les performances de croissance, l'expression des gènes et l'activité antioxydante ont été soumises à une ANOVA (SAS 9.4). Les données non paramétriques ont été soumises au test de Kruskal-Wallis ($P<0,05$) et les tendances indiquées lorsque $P<0,10$. L'analyse du kinome, a été effectuée selon Johnson et al. (2019). Les données ont été analysées par le logiciel d'analyse de matrice de peptides PIIKA2 (Trost et al. 2013).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances de croissance

De j0 à j14, aucun effet significatif n'a été observé sur les performances de croissance (tableau 1) hormis une tendance à l'amélioration de l'IC à j7 (P=0,10) et à une augmentation du GPC à j14 (P=0,06) chez les oiseaux nourris avec P(BF). De 0 à 21j et de 0 à 28j, la supplémentation en P(BF) a significativement augmenté le GPC (P<0,05) de 3,6 et 3,8 %, et amélioré l'IC (P<0,05) de 1,2 et 1,8 %, respectivement. Sur la période 0 à 35j, la supplémentation a amélioré le GPC (P=0,03) de 4 % et l'IC de 2 % (P=0,07). La supplémentation en P(BF) a permis d'améliorer les performances de croissance des poulets soumis à des stress de début de vie. La supplémentation a été fournie de j1 à j14 seulement, lorsque les oiseaux peuvent être plus sensibles aux facteurs de stress et que le système immunitaire peut ne pas être complètement mature (Klasing, 2007). Par conséquent, une période de supplémentation plus longue pourrait être encore plus bénéfique, en particulier lors de challenges plus tardifs. Du point de vue de l'industrie, les performances de croissance sont les principaux indicateurs pour qualifier une supplémentation nutritionnelle. En condition d'essai, les performances de croissance ne reflètent pas systématiquement la réalité de la production où les challenges peuvent être plus nombreux et/ou aigus. Le processus de prise de décision pourrait donc être complété par le soutien d'autres paramètres comme l'immunométabolisme qui représente l'interaction entre immunité et métabolisme. Dans la présente étude, la supplémentation en P(BF) a positivement influé sur les performances de croissance des oiseaux à j21, j28 et j35, mais également sur les défenses antioxydantes et sur l'expression des gènes du système immunitaire. L'immunométabolisme, est une approche de recherche récente qui peut être envisagée sous différents angles : l'effet de l'immunité sur l'ensemble du métabolisme de l'organisme ou le rôle des voies métaboliques sur l'immunité de l'hôte (Arsenault et Kogut, 2013). Bien qu'intéressant pour l'évaluation du mécanisme d'action de nouveaux additifs alimentaires, il existe peu d'études utilisant ce concept (Arsenault et al., 2017 ; Johnson et al., 2019).

2.2. Expression génique et stress oxydatif

Les concentrations sériques de MDA, GPx et GR sont présentées dans le tableau 2. Il n'y avait pas de différence entre les traitements à j7 ou j15 pour l'activité MDA et GPx. L'activité GR à j15 était plus élevée chez les oiseaux nourris avec P(BF) (P=0,04). L'expression des gènes liés au système immunitaire est présentée dans le tableau 3. Par rapport aux oiseaux nourris avec un régime témoin, les poulets supplémentés en P(BF) présentaient une expression plus faible de l'IL-1β dans les poumons à j7, et une expression de l'ARNm de l'IL-6 plus élevée de 26 et 18% dans le foie à j7 et j15, respectivement. Les oiseaux ont été doublement vaccinés contre la BI et exposés à 48 h de stress thermique par le froid. Les facteurs de stress conduisent à l'activation de facteurs de transcription, tels que NF-kB, qui favorisent à terme l'expression de cytokines pro-inflammatoires (Banerjee et al., 2020), dont l'IL-1β. Par conséquent, l'expression plus faible de l'IL-1β dans les poumons des oiseaux supplémentés en P(BF) à j7 peut indiquer une réponse inflammatoire réduite. De plus, l'expression d'IL-6 plus élevée avec P(BF) peut aller de pair avec un effet métabolique important en plus de ses effets de médiation immunitaire, car il a été démontré que l'IL-6 pouvait agir sur l'élimination du glucose, la lipolyse, le métabolisme oxydatif et la dépense énergétique (Han et al., 2020). Ces données d'expression génique sont par ailleurs en accord avec l'analyse du kinome réalisée dans le jéjunum et le foie, dans laquelle la phosphorylation et la fonction de plusieurs protéines, liées aux défenses immunitaires et antioxydantes, a été modifiée par la supplémentation.

2.2. Analyse du kinome

Les résultats de l'analyse du kinome dans le jéjunum et le foie ont montré que le traitement avait un effet significatif sur la résistance au stress oxydatif. L'analyse des tissus du jéjunum et du foie à j15 met en évidence la voie de signalisation de la protéine Forkhead box O (FOXO) par l'état de phosphorylation de ses protéines en amont et en aval (tableau 4). La phosphorylation est un mécanisme important de modification post-traductionnelle régulant la fonction des protéines et les processus biologiques (Manning et al., 2002). L'analyse du kinome peut ainsi nous aider à mieux expliquer l'amélioration des performances de croissance observée chez les animaux soumis à un stress précoce ainsi que les observations faites sur l'activité de la GR et les changements dans l'expression des gènes obtenus par la supplémentation en P(BF). En effet, FOXO est une voie de signalisation immunométabolique et inflammatoire double avec une action sur le stress oxydatif et la résistance au stress oxydatif (Akasaki et al., 2014 ; Sundaresan et Puthanveetil, 2017). Sous stress oxydatif, FOXO a des effets anti-inflammatoires en favorisant la détoxification des radicaux libres (RL), l'apoptose (ASK-1, AP-1) et en diminuant l'activation des cytokines pro-inflammatoires. Nous avons aussi observé une diminution de la phosphorylation des protéines immunorégulatrices ou pro-inflammatoires. La phosphorylation de la catalase sur ses sites de phosphorylation Y231 et Y386 favorise l'ubiquitination et l'activité protéasomique (Cao et al., 2003). Par conséquent, la réduction de la phosphorylation de la catalase sur ces sites telle qu'observée dans cette étude indique une préservation de l'enzyme et une meilleure garantie de son activité dans le tissu. La littérature montre également que GPx et GR sont tout aussi importantes dans la détoxification des RL (Yang et al., 2006). Les résultats observés ici sur le stress oxydatif indiquent une activité accrue de la GR et corroborent ainsi la

relation avec la signalisation FOXO pendant le stress oxydatif. Une illustration supplémentaire indiquant une réponse active et une amélioration de la résistance au stress oxydatif est observée par l'activation de la sénescence cellulaire qui peut également être induite via le stress oxydatif et la signalisation TGFRB (Hubackova et al., 2012). Les résultats hépatiques ont montré plus de voies immunorégulatrices innées et l'analyse a montré que le statut de phosphorylation des protéines STAT3, IL12-R, IL-23R et TIRAP indiquait moins d'activation que chez les poulets de chair témoins (non supplémentés). Ces résultats ainsi que l'augmentation de l'expression de l'IL-10 (tableau 3) et la phosphorylation des récepteurs IL-6R et TGF-β sur leurs sites actifs peuvent être une indication d'une inflammation réduite ou d'une réponse anti-inflammatoire. Semblable aux échantillons de foie prélevés à j15, les résultats de l'analyse du kinome du jéjunum ont montré une diminution de la phosphorylation associée à une diminution de l'activation de TIRAP, IL-12R et NF-kB (tableau 4). Les protéines en amont et en aval de FOXO comme NF-kB, P38, NFAT STAT3 et AP-1 se trouvent dans la voie de signalisation des récepteurs des cellules T pour le foie à j15. Ces protéines sont liées à l'expression accrue du marqueur anti-inflammatoire IL-10 (Hermann-Kleiter et Baier, 2010 ; Sanin et al., 2015). Le jéjunum montre également une phosphorylation accrue du duo anti-inflammatoire IL-6R et récepteur TGF-bêta (tableau 4) mais aussi une activation par phosphorylation des facteurs pro-inflammatoires RAG et STAT3 illustrant une réponse immunomodulatrice plus complexe dans le jejunum que dans le foie. D'autres signalisations cellulaires importantes ont par ailleurs été observées et comprenaient la signalisation des adipocytokines et des chimiokines pour le foie, tandis que la sénescence cellulaire et la signalisation de la relaxine ont également été observées pour le jéjunum. La supplémentation en P(BF) a permis, dans les conditions de cette étude, d'améliorer les performances de croissance des poulets de chair soumis à un stress précoce. Il sera intéressant de continuer l'analyse de ces avantages sous des angles complémentaires et en variant les conditions d'expérimentation (de stress, de type d'aliments, de système de production, etc.) afin d'explorer le plein potentiel de cette supplémentation.

CONCLUSION

La supplémentation en P(BF) a amélioré les performances de croissance des poulets de chair soumis à un stress précoce. Les analyses de l'expression génique et les résultats du statut antioxydant appuyés par les données de l'analyse du kinome démontrent que cette nouvelle supplémentation module de façon favorable les systèmes de défense immunitaire et antioxydant des oiseaux

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Akasaki, Y., O. Alvarez-Garcia, M. Saito, B. Caramés, Y. Iwamoto, and M. K. Lotz. 2014. Arthritis Rheumatol. 66:3349–3358.
Arsenault, R., and M. Kogut. 2013. Curr. Top. Biotechnol. 7:79–89.
Arsenault, R. J., J. T. Lee, R. Latham, B. Carter, and M. H. Kogut. 2017. Poult. Sci. 96:4307–4316.
Banerjee, S., S. Ghosh, A. Mandal, N. Ghosh, and P. C. Sil. 2020. Arch. Toxicol. 94:2293–2317.
Cao, C., Y. Leng, X. Liu, Y. Yi, P. Li, and D. Kufe. 2003. Biochem. 42:10348–10353.
Estévez, M. 2015. Poult. Sci. 94:1368–1378.
Ghazi Harsini, S., M. Habibiyan, M. M. Moeini, and A. R. Abdolmohammadi. 2012. Biol. Trace Elem. Res. 148:322–330.
Han, M. S., A. White, R. J. Perry, J.-P. Camporez, J. Hidalgo, G. I. Shulman, and R. J. Davis. 2020. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 117:2751–2760.
Hermann-Kleiter, N., and G. Baier. 2010. Blood. 115:2989–2997.
Hornbeck, P.V., B. Zhang, B. Murray, J. M. Kornhauser, V. Latham and E. Skrzypek. 2015. Nucleic Acids Res 43:D512-D520.
Hubackova, S., K. Krejcikova, J. Bartek, and Z. Hodny. 2012. Aging. 4:932–951.
Johnson, C. N., M. H. Kogut, K. Genovese, H. He, S. Kazemi, and R. J. Arsenault. 2019. Microorganisms 7.
Klasing, K. A. 2007. Br. Poult. Sci. 48: 525-537.
Kogut, M. H., and R. J. Arsenault. 2015. Front. Vet. Sci. 2.
Manning, G., D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, and S. Sudarsanam. 2002. Sci. 298:1912–1934.
Sanin, D. E., C. T. Prendergast, and A. P. Mountford. 2015. J. Immunol. 195:1218–1232.
Su, Y., S. Li, H. Xin, J. Li, X. Li, R. Zhang, J. Li, and J. Bao. 2020. Poult. Sci. 99:129–141.
Sundaresan, S., and P. Puthanveetil. 2017. Am. J. Cell Physiol. 313:C239–C241.
Yang, M. S., H. W. Chan, and L. C. Yu. 2006. Toxicol. 226:126–130.
Zhang, Z. W., Z. H. Lv, J. L. Li, S. Li, S. W. Xu, and X. L. Wang. 2011. Poult. Sci. 90:1555–1561.
Zhao, F., Z. Zhang, H. Yao, L. Wang, T. Liu, X. Yu, S. Li, and S.-W. Xu. 2013. Res. Vet. Sci. 95:146–155

Tableau 1. Performances de croissance de poulets de chair soumis à un stress précoce et nourris d'un aliment témoin ou supplémenté avec un complexe protégé de biofacteurs.

	GPC, g	CA,	IC	GPC, g	CA, g	IC	GPC,	CA, g	IC
Traitement		0 à 7 j			0 à 14 j			0 à 21 j	
Témoin	92	118	1.266	345 ^{x}	456	1.322	770 ^{b}	1069	1.389 ^{a}
P(BF)[1]	95	117	1.229	359 ^{y}	469	1.306	799 ^{a}	1096	1.372 ^{b}
SEM	1.39	0.84	0.01	4.14	3.79	0.01	8.02	8.04	0.01
Valeur P	0.13	0.55	0.10	**0.06**	0.68	0.25	**0.03**	0.74	**0.02**
Traitement		0 à 28 j			0 à 35 j			Taux de survie, %	
Témoin	1367 ^{b}	2042	1.545 ^{a}	2051 ^{b}	3281	1.686 ^{x}		98	
P(BF)[1]	1422 ^{a}	2107	1.516 ^{b}	2136 ^{a}	3390	1.647 ^{y}		97	
SEM	13.03	16.50	0.01	22.74	27.65	0.01		0.01	
Valeur P	**0.01**	0.81	**0.01**	**0.03**	0.35	**0.07**		0.25	

[1]Complexe protégé de biofacteurs; GPC: Gain de Poids Corporel; CA: Consommation Alimentaire; IC: Indice de Consommation; SEM: Err. Type de la moyenne; (^{a,b}P<0.05; ^{x,y}P<0.10; n=12 enclos (30 ani.)/trt).

Tableau 2. Malondialdehyde, glutathione peroxidase, et glutathione reductase dans le serum de poulets de chair soumis à un stress précoce et nourris d'un aliment témoin ou supplémenté avec complexe protégé de biofacteurs.

Traitement	**MDA (µM)**		**Gpx nmol/min/ml**		**GR nmol/min/ml**
	7 jours	**15 jours**	**7 jours**	**15 jours**	**15 jours**
Témoin	21.7	25.0	18.5	18.5	34.9 ^{b}
P(BF)[1]	23.3	23.4	17.5	19.4	45.3 ^{a}
SEM	1.80	1.14	1.13	1.11	2.72
Valeur P	0.56	0.38	0.55	0.69	**0.04**

[1]Complexe protégé de biofacteurs; MDA: Malondialdehyde; Gpx: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase SEM: Erreur type de la moyenne (^{a,b} P < 0.05 ; n = 6 échantillons/traitement).

Tableau 3. Expression d'ARNm de cytokines dans les poumons, jejunum, ileon et foie de poulets de chair soumis à un stress précoce, nourris d'un aliment témoin ou supplémenté avec complexe protégé de biofacteurs.

	Poumons			**Jejunum**		**Ileon**		**Foie**	
Traitement	**IL-10**	**IL-1β**	**IFN- γ**	**IL-6**	**IL-10**	**IL-6**	**IL-10**	**IL-6**	**IL-10**
Jour 7									
Témoin	9.82	10.50 ^{a}	8.63	10.19	8.95	9.59	7.43	8.24 ^{y}	8.15 ^{x}
P(BF)[1]	9.17	9.04 ^{b}	8.07	9.04	8.30	9.12	6.43	11.09 ^{y}	5.88 ^{y}
SEM	0.45	0.48	0.47	0.59	0.48	0.40	0.45	0.85	0.66
Valeur P	0.35	**0.03**	0.45	0.20	0.38	0.45	0.14	**0.06**	**0.06**
Jour 15									
Témoin	9.77	10.77	13.28	10.53	9.54	8.27 ^{x}	9.62	9.87 ^{b}	7.82 ^{b}
P(BF)[1]	9.50	10.37	13.46	9.09	8.17	9.30 ^{y}	9.00	12.03 ^{a}	9.39 ^{a}
SEM	0.25	0.61	0.36	0.93	0.55	0.38	0.37	0.60	0.79
Valeur P	0.51	0.68	0.74	0.32	0.10	**0.06**	0.33	**0.02**	**0.03**

[1]Complexe protégé de biofacteurs ; SEM: Erreur type de la moyenne (^{a,b}P < 0.05 ; ^{x,y}P<0.10 ; n = 6 éch./trt).

Tableau 4. État de phosphorylation de protéines de la voie de signalisation FOXO dans le jéjunum et foie de poulets de 15 jours après un stress précoce, nourris d'aliment témoin ou supplémenté avec complexe protégé de biofacteurs.

Identification	**Proteine**	**Phosphorylation**	**Fonction**	**Phosphorylation**	**Fonction**
		Jejunum		**Foie**	
P36897	TGF-B receptor	+	+	+	+
P04040	Catalase (Y231)	-	+	-	+
O95644	NFAT	+	+		
Q60591	NFAT			+	+
P05412	AP-1	+	+	+	+
P46108	P38	-	+	-	+
Q00653	NF-kB	-	Altérée	-	Altérée
P40189	IL-6R	+	Altérée	+	Altérée
P29460	IL-12	-	Inconnue	-	Inconnue
Q5VWK5	IL-23			+	Inconnue
P58753	TIRAP	-	+	-	+
P40763	STAT3	+	+	-	+

Effet d'une supplémentation en biofacteurs protégés sur les performances des poulets de chair soumis à un stress précoce

L. Lahaye[1], C. Bortoluzzi[2], F. Perry[3], A. Cottin-Tillon[3], S. Benaben[3], E. Landeau[3], R. Arsenault[2], D. Korver[4], M. Kogut[5] et E. Santin[1]

[1]Jefo Nutrition, 5020 avenue Jefo, St Hyacinthe, QC, J2S7B6, Canada [2]Department of Animal and Food Sciences, University of Delaware, DE, USA [3]Jefo Europe, 2 rue Claude Chappe, 44481 Carquefou, France [4]University of Alberta, Edmonton, AB, Canada [5]USDA-ARS, Southern Plains Agricultural Research Center, College Station, TX, USA - **Contact :** sbenaben@jefo.ca


Ludovic Lahaye


Anouk Cottin-Tillon


Stéphane Benaben


Emmanuel Landeau


Elisabeth Santin

INTRODUCTION

Les **stress** en début de vie peuvent impacter négativement la santé, le développement du système immunitaire et les performances de croissance des poulets de chair.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact d'une supplémentation alimentaire en **biofacteurs protégés** (vitamines et extraits de fermentation) P(BF) sur les **performances** de croissance, l'activité antioxydante, l'expression de gènes liés au système immunitaire et le phénotype immunométabolique de poulets de chair soumis à un stress précoce.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

En station expérimentale (Jefo, Canada) 720 poulets d'un jour ont été répartis en **deux groupes (traitements) de 12 réplications (enclos) de 30 oiseaux** chacuns, supplémentés ou non de 0 à 14 jours avec un complexe de biofacteurs protégés (tableau 1).

Tableau 1 : Groupes expérimentaux

Traitement	Supplémentation (14 premiers jours)
Régime témoin	-
Régime témoin + **Jefo P(BF)**	**Jefo P(BF)**

Jefo P(BF) : complexe de biofacteurs et d'antioxydants protégés (150 g/Tonne)

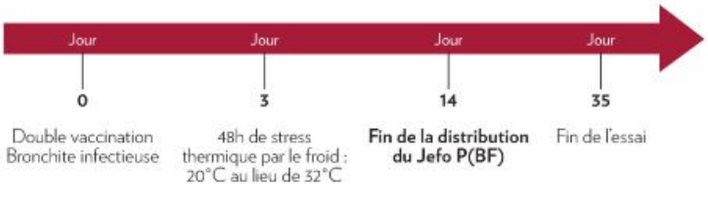


Figure 1. Déroulement de l'essai

RÉSULTATS ET DISCUSSION

• Performances de croissance

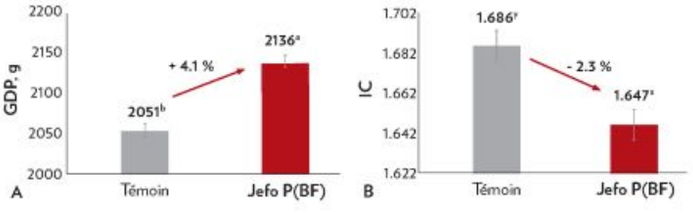


Figure 2. Gain de Poids (GDP) et Indice de Consommation (IC) de 1-35 jours des poulets soumis à un stress en début de vie ($^{a,b}P \leq 0.05$; $^{x,y}P \leq 0.10$).

La supplémentation avec les biofacteurs protégés lors du démarrage a permis d'améliorer les performances finales des poulets.

• Stress oxydatif

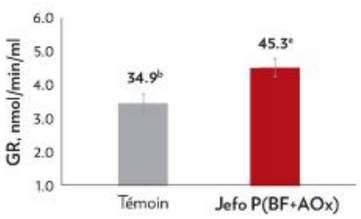


Figure 3. Activité de la glutathion réductase dans le sérum de poulets au 15ème jour($P \leq 0.05$)

L'augmentation de l'activité de la glutathion reductase dans le sérum des poulets de chairs démontre une meilleure résistance au stress oxydatif.

• Analyse du kinome

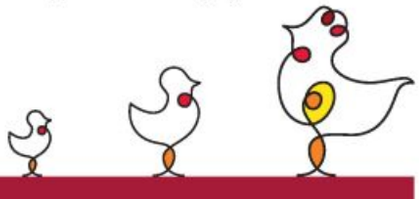
La phosphorylation est un mécanisme important de modification post-traductionnelle régulant la fonction des protéines et les processus biologiques (Manning et al., 2002). L'état de phosphorylation des protéines de la voie de signalisation Forkhead Box O (FOXO) a été étudié (tableau 2). Cette voie de signalisation immunométabolique et inflammatoire a une action sur le stress oxydatif et la résistance à ce type de stress.

Tableau 2. État de phosphorylation des protéines de la voie de signalisation FOXO dans le jejunum de poulets de chair de 15 jours soumis à un stress précoce et nourris d'un aliment témoin ou supplémenté avec un complexe protégé de biofacteurs.

Nom protéine	Phosphorylation	Fonction	Quel est l'effet ?
SIRT1	+	+	Régulation immunitaire et métabolique
TGF-B receptor	+	+	Facteur de croissance et cytokine
TLR7/8	+	Inconnue	Réponse immunitaire à une infection virale
Catalase (Y231)	-	+	Effets antioxydants
NFAT	+	+	Facteur de transcription pour l'immunité
AMPK	+	+	Homéostasie cellulaire en énergie
JNKK	+	+	Contrôle des processus cellulaires
AP-1	+	+	Facteur de transcription pour les processus cellulaires
P38	-	+	Contrôle de réponse à un stress et des cytokines
NF-kB	-	-	Facteur de transcription pour l'immunité
IL-6R	+	+	Récepteur à IL6
IL-12	-	-	Augmentation de la sécrétion de IFN-g
TIRAP	-	+	Adaptateur associé au TLR
STAT3	+	+	Contrôle des processus cellulaires : prolifération et différenciation
TRAF2	-	+	Régulation immunitaire
RAG	+	Altérée	Réarrangement des gènes Ig et TcellR

Sous stress oxydatif, FOXO a des effets anti-inflammatoires en favorisant la détoxification des radicaux libres (notamment grâce à la préservation de la catalase), l'apoptose (AP-1) et en diminuant l'activation des cytokines pro-inflammatoires.

L'analyse et l'observation de la modulation positive des réponses immunitaires et antioxydantes apporte une aide supplémentaire à l'explication des meilleures performances mesurées chez les poulets supplémentés avec P(BF).



CONCLUSION

La supplémentation en **P(BF) a amélioré les performances de croissance** des poulets de chair soumis à un stress précoce. Les analyses de l'expression génique et les résultats du statut antioxydant appuyés par les données de l'analyse du kinome démontrent que cette nouvelle supplémentation **module** de façon favorable les **systèmes de défense immunitaire et antioxydant** des oiseaux.

Jefo
La vie, en plus facile

EFFET DE L'ADMINISTRATION DE FRACTIONS DE LEVURES RICHES EN MANNANES ET β-GLUCANES (1,3 ET 1,6) SUR LA FLORE FECALE ET LES PERFORMANCES EN DINDES

Zampiga Marco[1], Sirri Federico[1], Rondel Elen[2], Manfreda Gerardo[1], Lucchi Alex[1], De Cesare Alessandra[3]

[1]*UNIVERSITE DE BOLOGNE- Département des Sciences Agricoles et Alimentaires - Via del Florio 2, OZZANO DELL'EMILIA*

[2]*PHILEO BY LESAFFRE - 137 rue Gabriel Péri- 59700 MARCQ-EN-BAROEUL*

[3]*UNIVERSITE DE BOLOGNE- Département des Sciences Vétérinaires - Via Tolara di Sopra 50, OZZANO DELL'EMILIA*

e.rondel@phileo.lesaffre.com

RÉSUMÉ

L'administration de postbiotiques peut influencer positivement la performance et la santé des volailles en modulant la composition de la flore intestinale. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets de la supplémentation avec des fractions de levures riches en mannanes et β-glucanes (1,3 et 1,6) sur les performances de production et la flore fécale de dindes. 1620 dindes femelles (BUT Big 6) d'un jour ont été aléatoirement divisées en 2 groupes expérimentaux (9 répétitions de 90 animaux) : CONT, recevant un aliment contrôle commercial, et TRT recevant l'aliment CONT supplémenté avec 500g/t de fractions de levures. Les échantillons fécaux ont été collectés à J21 et J85 (n=18 échantillons/groupe/période d'échantillonnage) et le microbiote analysé selon la méthode ARNr-16S. L'analyse du microbiote a révélé un effet intéressant attribuable au traitement. Les fèces des dindes TRT étaient caractérisées par une plus faible proportion de Gammaproteobacteria (principalement Enterobacteriaceae, dont *Klebsiella, Shigella, Escherichia, Enterobacter, Erwinia* et *Serratia*) à J21 (0,45% vs. 20,6% pour les groupes TRT et CONT respectivement, p<0.0001) associée à une présence significativement plus importante de bactéries bénéfiques (i.e. *Lactobacillus ssp., Clostridium bifermentans* et *Pediococcus acidilactici*). Les performances de croissance des groupes CONT et TRT ont été similaires jusqu'à 91 jours. Bien que le groupe TRT ait atteint un poids vif inférieur à l'abattage (9,508 vs. 9,658 kg ; p<0,05) dû à des performances légèrement inférieures durant la phase de finition (92-106 jours), ces résultats indiquent que la supplémentation avec des fractions de levures induisent des effets positifs sur la composition de la flore fécale de dindes, promouvant une bonne santé intestinale, mais également l'importance de la dose d'additif à administrer afin d'optimiser les performances. En effet, les résultats préliminaires d'une seconde étude, au cours de laquelle le niveau de supplémentation a été ajusté en finition, indiquent une meilleure efficacité alimentaire sur le groupe supplémenté par rapport au groupe contrôle.

ABSTRACT

Effect of the dietary administration of a yeast fraction rich in mannan-oligosaccharides and β-glucans (1,3 and 1,6) on fecal microbiota and productive performance of turkeys

The dietary administration of postbiotic compounds is thought to positively affect productive efficiency and health of poultry by modulating the gut microbiota composition. The aim of this study was to investigate the effects of the dietary administration of a yeast fraction rich in mannan-oligosaccharides and β-glucans (1,3 and 1,6) on productive performance and fecal microbiota of turkeys. 1,620 one-d-old female poults (BUT Big 6) were randomly divided in 2 experimental groups (9 replicates of 90 birds/each): CONT, fed a commercial basal diet, and TRT receiving the CON diet supplemented with the feed additive (500 g/ton). Fecal samples were collected at 21 and 85 d (n=18 samples/group/sampling time) and microbiota analyzed using a 16S rRNA-seq-based approach. Microbiota analysis revealed interesting effects ascribed to the treatment. Feces from TRT turkeys were characterized by a lower abundance of Gammaproteobacteria (mainly Enterobacteriaceae including *Klebsiella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Erwinia* and *Serratia*) at 21 d (0.45 vs. 20.6%, for TRT and CONT group, respectively; P<0.001) associated to a significantly greater amount of health promoting microorganisms at (i.e. *Lactobacillus spp.*, *Clostridium bifermentans* and *Pediococcus acidilactici*). Growth performances of CON and TRT turkeys were similar till 91 d. Despite the fact that TRT group reached a lower body weight at slaughter (9,508 *vs.* 9,658 g; *P*<0.05) due to slightly worsen productive performance during the last feeding phase (92-106 d), these results indicate that the dietary supplementation of the yeast fraction determines positive effects on fecal microbiota composition of turkeys promoting healthy gut conditions, but also highlight the importance of the dosage of the product to optimize performance. The preliminary results of a second study, which has seen an adjustment of the supplementation level, indeed shows a better feed efficiency on the supplemented group than the control.

INTRODUCTION

Depuis 2006, les antibiotiques utilisés jusqu'alors en tant que facteurs de croissance ont été interdits en Union Européenne. Ceci, afin d'éviter l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui présentent un risque pour la santé humaine. Ce changement de réglementation a impliqué la recherche d'alternatives pour améliorer la santé et les performances de croissance des animaux. Les bénéfices de ces alternatives sur les performances pourraient, entre autres, être liés à des modifications du microbiote intestinal, participant à l'équilibre de celui-ci, et donc la santé de l'hôte. Dans ce cadre, les fractions de levures riches en mannanes et β-glucanes se sont révélées prometteuses dans de nombreuses études réalisées en poulet de chair. Elles permettraient de réduire les populations d'Entérobactéries pathogènes telles qu'*E. coli* (Morales-Lopez and Brufau, 2013), d'améliorer la réponse immunitaire (Shahir et al., 2014) ainsi que l'intégrité et la fonctionnalité du tube digestif (Pascual et al., 2020).
L'objectif de cette étude est donc de confirmer l'effet des fractions de levures sur les performances des dindes et la composition de leur microflore fécale via séquençage ARN ribosomique (ARNr) 16S.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

1620 dindonneaux femelles B.U.T. 6 d'un jour ont été étudiés, après avoir reçu au couvoir les vaccinations de routine (TRT). A 30 jours, les animaux ont été vaccinés contre la maladie de Newcastle et l'entérite hémorragique.
La mortalité et la morbidité ont été mesurées quotidiennement, et les animaux morts ou malades ont été retirés de l'essai.
Aucun antibiotique n'a été utilisé durant toute la durée de l'expérimentation.

1.2. Design expérimental et traitements

A leur arrivée à la station expérimentale, les animaux ont été placés aléatoirement dans 18 cases grillagées (n = 90/case), dans un bâtiment conventionnel modifié. La litière composée des copeaux de bois n'a pas été remplacée en cours d'expérience. Les cases, correspondant chacune à une unité expérimentale, ont été assignées à l'un ou l'autre des deux traitements, avec 9 répétitions de 90 animaux par traitement. L'eau et l'aliment ont été distribués *ad libitum*.
Les traitements incluent : un aliment contrôle (CONT), ou l'aliment contrôle contenant une fraction de levure (TRT) (Safmannan®, Phileo by Lesaffre à 500g/t), provenant d'une souche exclusive de *Saccharomyces cerevisiae* contenant minimum 20% de mannanes et 20% de β-glucanes. Ces aliments étaient de type commercial, formulés selon les recommandations du sélectionneur, et comportaient un aliment démarrage (0-16 jours) distribué sous forme de miettes, trois aliments croissance (17-35 jours, 36-56 jours, 57-77 jours) distribués sous forme granulée, et deux aliments finition (78-91 jours, 92-106 jours) distribués sous forme granulée. Les quantités d'aliments intégrées dans les mangeoires ont été enregistrées, et à la fin de chaque phase d'alimentation, les quantités restantes ont été mesurées. L'ingestion quotidienne moyenne a été déduite de la soustraction entre ces deux valeurs à 16, 35, 56, 77, 91 et 106 jours. Le poids vif (PV) par case a été également mesuré à ces mêmes âges. L'indice de consommation (IC) a été calculé en fonction des données de PV et de consommation d'aliment et corrigé de la mortalité, pour chaque traitement et chaque phase alimentaire.
Après que la condition de distribution normale des données ait été vérifiée par un examen de la distribution de résidus, tous les paramètres zootechniques ont été soumis à un test de Student, considérant le traitement comme l'effet principal.
Récemment, à la suite de cet essai, une deuxième étude a été mise en place afin d'affiner le dosage des β-glucanes, pour permettre une modulation optimale du système immunitaire. Les dosages de la fraction de levure étaient les suivants : 500g/t durant les phases de démarrage et croissance 1, 250g/t durant les phases de croissance 2 et croissance 3, 125g/t durant les phases de finition 1 et finition 2. Les aliments ont été formulés comparativement à ceux de la première étude, et les paramètres zootechniques mesurés étaient identiques.

1.3. Echantillonnage et analyse

72 fientes fraîches ont été échantillonnées dans les deux groupes d'animaux à deux périodes d'échantillonnage, à J21 (n=36, 18 échantillons/groupe) et J85 (n=36, 18 échantillons par groupe). Pour chaque échantillon, 0,5 à 2 g de fientes ont été collectés et transférés dans des tubes de plastique stériles et immédiatement congelés dans de l'azote liquide et stockés à -80°C jusqu'à extraction de l'ADN.
Pour l'extraction d'ADN, 0,25g de fientes ont été mis en suspension dans 1 mL de tampon de lyse (500mM NaCl, 50mM Tris-Cl, pH 8,0, 50mM EDTA, 4% SDS, Roche) et homogénéisés 25 secondes à 6500 tr/min. Les échantillons ont ensuite été chauffés à 70°C pendant 15 min, puis centrifugés pour séparer l'ADN des débris cellulaires bactériens. Ce procédé a été répété avec

un deuxième tampon de lyse. Les échantillons ont ensuite été soumis à une précipitation de 10 M v/v d'acétate d'ammonium (Sigma), suivi par de l'isopropanol (Sigma) et un lavage à 70% d'éthanol (Carlo Erba), puis remis en suspension dans 100 uL de 1X Tris-EDTA (Sigma). Les échantillons ont été traités par une RNAse sans DNAse (Roche) et incubés pendant une nuit à 4°C, avant d'être traités via le QIAmp® DNA Stool Mini Kit (Qiagen). Les ADN extraits ont été analysés par spectromètre (Biospectrometer® Eppendorf) pour mesurer leur quantité et qualité et les préparer à leur référencement.
Les librairies ont été préparées en suivant le protocole de préparation Illumina 16S Library, amplifiant les régions V3 et V4 de l'ARNr 16S afin d'obtenir un seul amplicon d'approximativement 460 bp. Le séquençage a été réalisé avec l'Illumina MiSeq en utilisant le kit MiSeq Reagent v2 500 cycles, caractérisé par une production maximale de 8,5 Gb.
Toutes les séquences ont été analysées en utilisant MG-RAST (http://metagenomics.anl.gov/). La classification taxonomique des données séquencées a été réalisée en appliquant la méthode Best Hit Classification et en utilisant la base de données RDP.
Les valeurs moyennes de fréquence relative de l'abondance de chaque niveau taxonomique de chaque échantillon ont été comparées avec un test de Turkey-Kramer et les valeurs de p inférieures à 0,05% ont été considérées comme statistiquement significatives.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

1.1. Performances de production

Nous n'avons pas noté de différence significative sur le PV, l'IC ou la mortalité jusqu'à 91 jours entre le groupe contrôle et le groupe supplémenté. Cela n'est pas surprenant dans la mesure où les fractions de levures sont largement reconnues pour avoir un effet plus important chez les animaux élevés en conditions stressantes, notamment en conditions commerciales classiques, ou soumis à des challenges thermique (Sohail et al., 2013), immunitaires (Zhang et al., 2012) ou pathogènes (Fernandez et al., 2000). Cependant, le groupe TRT a atteint un poids vif légèrement inférieur à l'abattage (Tableau 1) dû à de moindres performances durant la phase de finition (92-106 jours). Ceci pourrait suggérer un dosage trop important de l'additif durant cette période. De nombreuses études (Guo et al., 2003 ; Pascual et al., 2020) ont reporté les effets immunomodulateurs des β-glucanes. Le système immunitaire étant prioritaire dans l'allocation des nutriments (Klasing, 2007), un dosage trop important pourrait sur-stimuler le système immunitaire au détriment de la croissance.

Lors de la seconde étude, les dosages en fraction de levures ont été ajustés pour permettre une modulation optimale du système immunitaire. Les niveaux de performance (Tableau 2) montrent que ce dosage a effectivement permis d'améliorer les performances des dindes supplémentées par rapport aux animaux du groupe contrôle. L'IC a été significativement réduit de 0,04 point.

1.2. Analyse du microbiote fécal

Les analyses de microbiote réalisées lors du premier essai ont montré qu'à 21 jours, la quantité de Proteobacteria s'élevait à plus de 20% dans les fientes collectées dans le groupe CONT, alors qu'elle atteignait moins de 1% dans les fientes appartenant au groupe TRT (Graphe 1). L'âge de prélèvement correspondait à une période de transition alimentaire, avec changement de présentation de l'aliment, période à risque de prolifération de bactéries pathogènes. La quantité de Firmicutes (phylum prédominant dans les deux groupes) représentait une proportion plus importante (+25 points) dans le groupe TRT comparativement au groupe CONT ($p = 0.054$). Les autres phyla détectés étaient également plus représentés dans le groupe TRT (avec les Bacteroïdetes atteignant 4,41% (vs 1,98%, p=0,849) et les Actinobacteries atteignant 3,51% (vs 0,91%, p=0,002)).
Dans le phylum des Firmicutes, la famille des Lactobacillaceae (Graphe 2) représentait une part significativement plus importante dans le groupe TRT que dans le groupe CONT (30,756% vs 19,271% respectivement, p=0,037) avec une prédominance du genre *Lactobacillus* (30,146% vs 19,124% ; p=0,037). Les bactéries appartenant à ce genre sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur l'hôte et largement utilisés comme probiotiques en volaille (Kalavathy et al., 2003 ; Jin et al., 1998). De même, la famille des Clostridiaceae était significativement plus représentée dans le groupe TRT (22,750 vs 9,154, p=0,001) dont les genres *Ruminococcus, Butyricicoccus, Eubacterium et Roseburia*. Ces bactéries sont productrices d'acides organiques permettant d'inhiber la croissance de certaines bactéries pathogènes (Apajalahti and Vienola, 2016 ; Louis et al., 2010).
Au sein du phylum des Actinobacteries, le genre *Bifidobacterium* était également significativement plus important dans le groupe TRT (0,371%) que dans le groupe CONT (3,182% ; $p<0,001$). Ce genre est également utilisé comme probiotique du fait de sa capacité à produire de l'acide lactique (Jung et al., 2008).
A l'inverse, la plus forte abondance de Proteobacteries dans les fientes des animaux appartenant au groupe CONT était majoritairement

due à la famille des Enterobacteriaceae (12,874% vs 0,235% ; p<0,001) (Graphe 2), et notamment des genres *Klebsiella* (8,601% vs 0,053% ; p<0,001), *Acinetobacter* (7,370% vs 0,116% ; p=0,001), *Shigella* (2,817% vs 0,045% ; p=0,029), *Escherichia* (0,377% vs 0,077% ; p=0,004), *Enterobacter* (0,305% vs 0,007% ; p<0,001), et *Erwinia* (0,286% vs 0,003% ; p<0,001), dont la plupart peuvent être potentiellement responsables d'infections locales ou systémiques (Andra et al., 1998 ; Saif et al., 2003).
La présence de bactéries bénéfiques en proportions plus faibles chez les animaux du groupe CONT, associée à la présence significativement plus élevée de bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae démontre la plus grande fragilité du microbiote des animaux de ce groupe, qui pourrait être enclin à voir la prolifération de bactéries pathogènes en cas de stress.

A 85 jours, les quantités de Proteobacteries et Actinobacteries, non présentées ici, sont retrouvées dans des proportions comparables dans les deux groupes. A cet âge, la famille des Bacillaceae présentait un niveau significativement plus élevé dans le groupe TRT (2,061% vs 1,256% ; p=0,043). Les espèces dont l'abondance était supérieure à 1% et significativement plus élevées dans le groupe TRT comportaient entre autres de nombreuses espèces du genre *Lactobacillus,* ou encore *Clostridium bifermentans* et *Pediococcus acidilactici*.

CONCLUSION

Les fientes des dindes appartenant au groupe TRT ont montré une plus grande abondance de microorganismes bénéfiques (i.e. différentes espèces de *Lactobacillus*, ainsi que *Clostridium bifermantans* et *Pediococcus acidilactici*) comparativement au groupe contrôle, à 21 jours comme à 85 jours. De plus, à 21 jours, une proportion beaucoup plus faible de Protéobactéries (i.e. *Klebsiella, Acinetobacter, Shigella, Escherichia, Enterobacter* et *Erwinia*) n'a pas été retrouvée chez les animaux du groupe supplémenté. Ces résultats indiquent que la supplémentation avec des fractions de levures induit des effets positifs sur la composition de la flore fécale de dindes. Dans cette étude, elles permettent à la fois une réduction des populations potentiellement néfastes pour l'hôte et une augmentation des populations bénéfiques, promouvant une bonne santé intestinale. La promotion et/ou le maintien d'un microbiote équilibré est important. En effet, un microbiote fragilisé, c'est-à-dire avec une moindre capacité à absorber les stress liés aux conditions d'élevage, pourrait entrainer des surcoûts liés à des hausses d'utilisation d'antibiotiques et des baisses de performances.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Andra O., Jesus J.H., Duarte C., 1998. IVCVM, 1-4
Apajalahti J., Vienola K., 2016. Anim. Feed Sci. Technol., 221, 323-330
Fernandez F., Hinton M., Van Gils B., 2000. Avian. Pathol., 29, 575-581.
Guo Y., Ali R.A., Qureshi M.A., 2003. Immunopharmacol Immunotoxicol., 25, 461-472
Jin L., Ho Y. Abdullah N., Jalaludin S., 1998. Poult. Sci., 77, 1259-1265
Jung S.J., Houde R., Baurhoo B., Zhao X., Lee B.H., 2008. Poult. Sci., 87, 1694-1699
Kalavathy R., Abdulah N., Jalaludin S., Ho Y.W., 2003. Br. Poult. Sci., 44, 139-144
Klasing K.C., 2007. Br. Poult. Sci., 48, 525-537
Louis P., Young P. Holtrop G., Flint H.J., 2010. Environ Microbiol., 12, 304-314
Morales-Lopez R., Brufau J, 2013. Br. Poult. Sci., 54, 247-251
Pascual A., Pauletto M., Giantin M., Radaelli G., Ballarin C., Birolo M., Zomeno C., Dacasto M., Bortoletti M., Vascellari M., Xiccato G., Trocino A., 2020. J. Animal Sci. Biotechnol., 11, 40.
Saif Y.M., Barnes H.J., Glisson J.R., Fadly A.M., McDougald L.R., Swayne D.E., 2003. Diseases of Poultry p.849
Shahir M.H., Sharifi M., Afsarian O., Mousavi S.S, 2014. J. Vet. Res. 60, 79-84
Sohail M.U., Ijaz A., Younus M., Shabbir M.Z., Kamran Z., Ahmad S., Anwar H., Yousaf M.S., Ashraf K., Shahzad A.H., Rehman H., 2013. J. of Appl. Poult. Res., 22, 485-491.
Zhang S., Liao B., Li X., Li L., Ma L., Yan X., 2012. Br. J. Nutr., 107, 858-866

Tableau 1. Performances de production de l'étude #1 (1-106 jours)

	1-106 jours		
	p	groupe CONT	groupe TRT
Poids vif (g/animal)	0,02	9,658 ± 35,3 a	9,508 ± 43,2 b
Ingestion (kg/animal)	0,66	22,44 ± 0,11	22,36 ± 0,14
Indice de consommation*	0,07	2,341 ± 0.01	2,366 ± 0,01
Mortalité	0,73	1,11 ± 0,02	0,86 ± 0,02

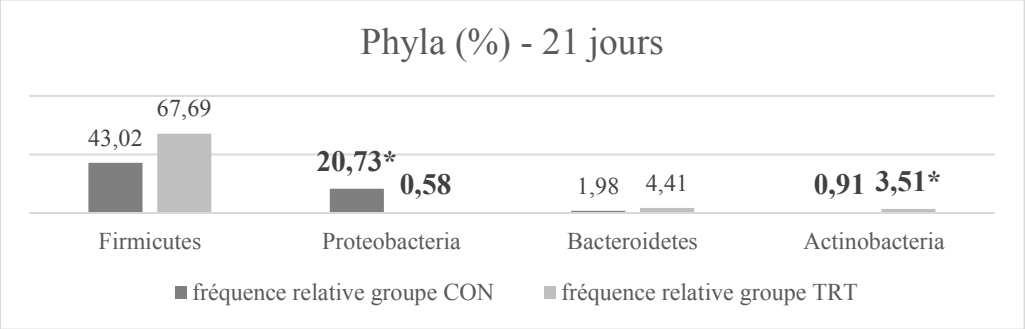
* corrigé sur la mortalité

Tableau 2. Performances de production de l'étude #2 (1-107 jours)

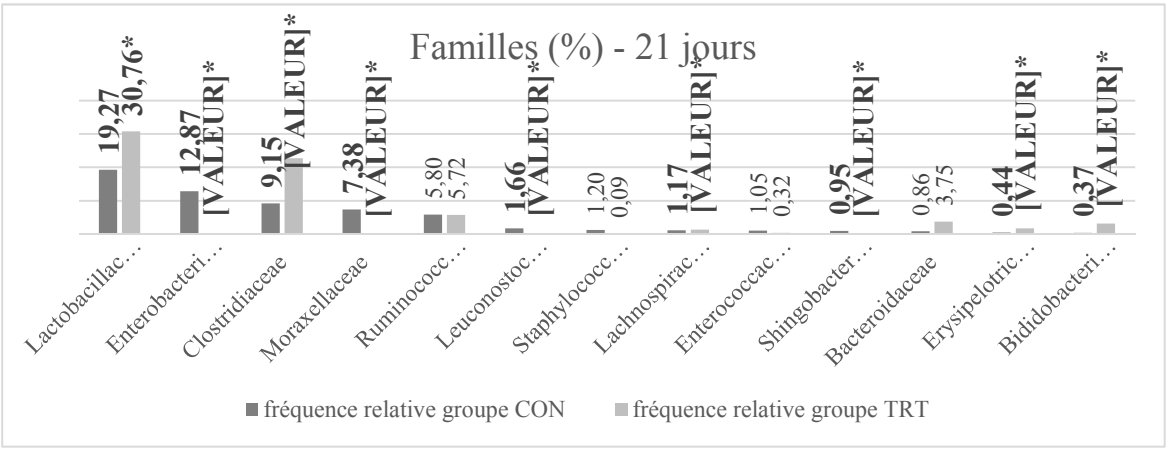
	1-107 jours		
	p	groupe CONT	groupe TRT
Poids vif (g/animal)	0,36	10,437	10,516
Ingestion (kg/animal)	0,53	23,69	23,56
Indice de consommation*	**0,01**	**2,313 b**	**2,272 a**
Mortalité	0,73	1,73	1,36

* corrigé sur la mortalité

Graphe 1. Phyla dont les valeurs moyennes d'abondance est ≥ 0,1% dans au moins l'un des groupes – 21 jours.
Les valeurs en gras se réfèrent aux phyla dont les valeurs moyennes d'abondance sont significativement différentes entre les deux groupes (p≤0,005)



Graphe 2. Familles dont les valeurs moyennes d'abondance est ≥ 1% dans au moins l'un des groupes - 21 jours
Les valeurs en gras se réfèrent aux phyla dont les valeurs moyennes d'abondance sont significativement différentes entre les deux groupes(p≤0,005)



EFFET DE L'ADMINISTRATION DE FRACTIONS DE LEVURES RICHES EN MANNANES ET ß-GLUCANES (1,3 ET 1,6) SUR LA FLORE FECALE ET LES PERFORMANCES EN DINDES

Zampiga M.[1], Sirri F.[1], Rondel E.[2], Manfreda G.[1], Lucchi A.[1], De Cesare A.[3]

[1] Département des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Alma Mater Studiorum – Université de Bologne, Ozzano dell'Emilia, Italie

[2] Phileo by Lesaffre, Marcq-en-Baroeul, France

[3] Département de médecine vétérinaire, Alma Mater Studiorum – Université de Bologne, Ozzano dell'Emilia, Italie

CONTEXTE ET OBJECTIF

L'administration alimentaire de postbiotiques tels que les mannan-oligosaccharides et les ß-glucanes aurait un effet bénéfique sur les performances de production et l'état de santé des volailles, principalement par la modulation de la composition du microbiote intestinal. Les connaissances scientifiques concernant l'effet des postbiotiques sur la modulation du microbiote de la dinde restent toutefois limitées. Dans ce contexte, cette étude a été réalisée pour évaluer les effets de l'administration alimentaire d'une fraction de levure riche en mannan-oligosaccharides et ß-glucanes (1,3 et 1,6) sur le microbiote fécal et les performances productives de dindes femelles.

MATERIELS ET MÉTHODES

1 620 dindes de 1j (BUT Big 6)	**Groupe témoin (9 cases similaires)**	Aliment de base commercial
	Groupe essai (9 cases similaires)	Aliment témoin + fraction de levure (500 g/t)

STATISTIQUES

Prélèvement d'échantillons fécaux : à j21 et j85 (n = 18 échantillons/groupe/prélèvement) ; 2 échantillons/case/prélèvement)

Analyse du microbiote : séquençage de l'ARNr 16S

Performances : à la fin de chaque phase d'alimentation (j16, 37, 56, 77 et 91) et à l'abattage (j106), pour chaque case

RÉSULTATS

Au niveau du phylum (Tableau 1), l'abondance relative des protéobactéries à j21 était supérieure à 20 % dans le groupe témoin, alors qu'elle n'atteignait pas 1 % dans le groupe essai ($p < 0,001$). Au contraire, le groupe essai a présenté une plus grande abondance de Firmicutes ($p = 0,05$) et d'actinobactéries ($p < 0,01$). À j85, aucune différence significative n'a été observée au niveau du phylum entre les groupes. La classe des gamma-protéobactéries (20,6 contre 0,45 % respectivement pour les groupes témoin et essai ; $p < 0,001$) a contribué de manière significative à la plus grande abondance de protéobactéries dans les fèces des dindes témoins à j21 (principalement des *Enterobacteriaceae*, notamment *Klebsiella, Shigella, Acinetobacter, Escherichia, Enterobacter, Erwinia* et *Serratia*). À j85 (Tableau 2), le groupe essai a présenté une plus grande abondance de certains micro-organismes bénéfiques pour la santé (c.-à-d. différentes espèces de Lactobacillus, ainsi que *Clostridium bifermentans* et *Pediococcus acidilactici*).

Les performances des dindes témoins et essais ont été similaires jusqu'à j91. Cependant le groupe essai a atteint un poids corporel plus faible à l'abattage, ce qui pourrait être attribuable au surdosage du produit sur cette période spécifique. Lors d'une seconde étude, les dosages en fraction de levures ont été ajustés pour permettre une modulation optimale du système immunitaire. Les niveaux de performance montrent que ce dosage a effectivement permis d'améliorer les performances des dindes supplémentées par rapport aux animaux du groupe témoin. L'IC a été significativement réduit de 4 points.

Tableau 1. Abondance relative (%) des phylums identifiés dans les échantillons fécaux des dindes témoin et essai (moyenne ± ET) à j21.

Phylums	TÉMOIN	ESSAI	Valeurs *p*
Firmicutes	43,0 ± 33,7	67,7 ± 20,0	0,05
Proteobacteria	20,7 ± 25,2	0,58 ± 0,82	<0,001
Bacteroidetes	1,98 ± 2,39	4,41 ± 8,61	0,85
Actinobacteria	0,91 ± 1,18	3,51 ± 3,92	<0,01

Tableau 2. Abondance relative (%) de plusieurs espèces identifiées dans les échantillons fécaux des dindes témoin et essai (moyenne ± ET) à j85.

Espèces	TÉMOIN	ESSAI	Valeurs *p*
Lactobacillus johnsonii	2,83 ± 2,75	6,19 ± 5,30	0,04
Lactobacillus reuteri	2,73 ± 2,62	6,41 ± 4,02	<0,01
Lactobacillus bifermentans	2,38 ± 2,75	4,28 ± 3,45	0,03
Lactobacillus fermentum	2,10 ± 2,20	3,71 ± 2,28	0,04
Lactobacillus gasseri	1,56 ± 1,65	2,98 ± 1,50	<0,01
Lactobacillus plantarum	1,23 ± 2,31	2,44 ± 2,14	0,02
Lactobacillus agilis	1,03 ± 0,98	2,01 ± 0,71	<0,01
Clostridium bifermentans	2,38 ± 2,75	4,28 ± 3,45	0,03
Pediococcus acidilactici	0,85 ± 1,07	1,57 ± 0,80	<0,01

CONCLUSION

Les fientes des dindes appartenant au groupe essai ont montré une plus grande abondance de microorganismes bénéfiques (i.e. différentes espèces de *Lactobacillus*, ainsi que *Clostridium bifermantans* et *Pediococcus acidilactici*) comparativement au groupe témoin, à 21 jours comme à 85 jours. De plus, à 21 jours, une proportion beaucoup plus faible de Protéobactéries (i.e. *Klebsiella, Acinetobacter, Shigella, Escherichia, Enterobacter* et *Erwinia*) n'a pas été retrouvée chez les animaux du groupe essai. Ces résultats indiquent que la supplémentation avec des fractions de levures induit des effets positifs sur la composition de la flore fécale de dindes. Dans cette étude, elles permettent à la fois une réduction des populations potentiellement néfastes pour l'hôte et une augmentation des populations bénéfiques, promouvant une bonne santé intestinale. La promotion et/ou le maintien d'un microbiote équilibré est important. En effet, un microbiote fragilisé, c'est-à-dire avec une moindre capacité à absorber les stress liés aux conditions d'élevage, pourrait entrainer des surcoûts liés à des hausses d'utilisation d'antibiotiques et des baisses de performances.

Phileo by Lesaffre

phileo-lesaffre.com

SESSION

ECONOMIE - SOCIOLOGIE

SESSION

ECONOMIE – SOCIOLOGIE

Posters

PRATIQUES ET STRUCTURATION DE L'ETAPE RAMASSAGE DE VOLAILLES DANS LE SUD-OUEST

Pertusa Marion[1], Kouadio Yann[1], Boizumeau Nicolas[2], Henry Isabelle[3], Blin Marine[4], Rousset Nathalie[5]

[1]ITAVI – Agrocampus, 1003 Allée Jean D'Arcet, 40 280 HAUT-MAUCO
[2]MSA Sud-Aquitaine, 70 rue Alphonse Daudet, 40 280 SAINT-PIERRE-DU-MONT
[3]AIRVOL, Cité Galliane, 40 005 MONT DE MARSAN
[4]Cluster biosécurité, Cité Galliane, 40 005 MONT DE MARSAN
[5]ITAVI, 41 Rue de Beaucemaine, 22 440 PLOUFRAGAN

pertusa@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Permettant le transfert des animaux des sites de production vers l'abattoir, l'étape de ramassage est indispensable aux filières avicoles. Néanmoins, sa mise en œuvre peut s'avérer délicate puisqu'elle nécessite la coordination de nombreux acteurs et présente des contraintes propres à l'activité (pénibilité, travail de nuit). En l'absence d'un cadre commun, les pratiques et modalités d'organisation de l'activité ramassage présentent des hétérogénéités sur le terrain, induisant des risques pour la sécurité des opérateurs, le bien-être animal, le respect des mesures de biosécurité et plus globalement, pour la pérennité de la main d'œuvre. Ainsi, afin d'engager une démarche interprofessionnelle de progrès, il est nécessaire de réaliser un état des lieux. Une enquête qualitative basée sur des entretiens semi-directifs, a donc été réalisée auprès d'éleveurs, de responsable de planification, de transporteurs, d'abattoirs et de prestataires de ramassage, des filières volailles de chair et de palmipèdes à foie gras. La plus grande diversité de profils a été ciblée, en considérant deux grands schémas de fonctionnement présents sur le territoire. Au plan organisationnel, la gestion des plannings d'enlèvement en flux tendu, les modifications d'informations au dernier moment et l'absence de feedback, correspondent aux facteurs les plus délétères pour la coordination des différents acteurs et la gestion des équipes intra-entreprises. Sur le terrain, l'accessibilité des sites de production et la conformité des équipements mis à disposition se sont montrés comme des prérequis essentiels pour garantir le confort des équipes intervenantes et de fait, le respect des mesures de biosécurité. Par ailleurs, la mise en place d'un climat accueillant et professionnel, permet de développer une relation de confiance avec les équipes de ramassage qui sont mieux disposées à l'observance des mesures de biosécurité et aux bonnes pratiques en matière de manipulation des animaux. Aujourd'hui, cette étude constitue un diagnostic préalable important pour initier un véritable encadrement de l'étape de ramassage des volailles.

ABSTRACT

The collection stage is essential to the poultry industry, as it allows the transfer of animals from production sites to the slaughterhouse. Nevertheless, its implementation can be delicate since it requires the coordination of many actors and presents constraints specific to the activity (arduousness, night work). In the absence of a common framework, the practices and organization of the collection activity are heterogeneous in the field, leading to risks for the safety of operators, animal welfare, compliance with biosafety measures and, more globally, for the sustainability of the workforce. Thus, in order to initiate an interprofessional approach to progress, it is necessary to carry out an inventory. A qualitative survey based on semi-directive interviews was therefore carried out with breeders, planning managers, transporters, slaughterhouses and collection service providers in the broiler poultry and foie gras palmiped sectors. The greatest diversity of profiles was targeted, taking into account the two operating schemes present in the territory. At the organizational level, the management of just-in-time collection schedules, last-minute changes in information and the absence of feedback are the most deleterious factors for the coordination of the various actors and the management of intra-company teams. In the field, the accessibility of the production sites and the conformity of the equipment made available have proven to be essential prerequisites to guarantee the comfort of the intervening teams and thus the respect of biosafety measures. In addition, the establishment of a welcoming and professional climate allows the development of a relationship of trust with the collection teams, who are better prepared to comply with biosafety measures and good animal handling practices. Today, this study constitutes an important preliminary diagnosis to initiate a real supervision of the poultry collection stage.

INTRODUCTION

Le ramassage, permettant l'acheminement des animaux vers des sites de production ou d'abattage, constitue un pilier essentiel de la chaîne de production pour les filières avicoles. Au cœur d'une organisation multi-acteurs, le ramassage est reconnu comme un exercice particulièrement sensible à la fois pour la santé des opérateurs de terrain, pour la sécurité sanitaire des sites et pour le bien-être des animaux (Dennery et al., 2015 et Kettlewell et al., 1994). Les disparités de pratiques et de modes d'organisation constatées sur le terrain peuvent alors impacter le bon déroulement et la gestion des chantiers. En outre, des problématiques se posent pour le recrutement et la pérennisation de la main d'œuvre. L'encadrement et la reconnaissance de cette activité représentent alors deux enjeux essentiels, attendus par les professionnels des filières. Cette étude a eu pour objectif de faire un état des lieux, dans le bassin de production spécifique du Sud-Ouest, des modes de fonctionnement, points facilitants ainsi que des contraintes vécues par les acteurs impliqués dans le ramassage des volailles, pour constituer un socle de compréhension et d'analyse nécessaire, dont le but est d'initier une démarche de progrès.

1. MATERIELS ET METHODES

Pour réaliser cet état des lieux, une enquête qualitative a été conduite auprès des différents acteurs impliqués.

1.1. Echantillonnage

Sur le périmètre de l'étude (Sud-Ouest de la France), deux grands schémas d'organisation ont été pris en compte, sur la base d'une prospection préliminaire, considérant des niveaux de contractualisation variables entre maillons, pour les filières volailles de chair et palmipèdes à foie gras.
Au total, 25 personnes ont été interrogées, incluant 4 représentants d'Organisation de Producteurs (OP), 9 producteurs, 6 prestataires de ramassage, 3 abatteurs et 3 transporteurs. Pour chaque maillon, des profils différents ont été ciblés, impliquant différents niveaux de responsabilité et de fonction au sein des entreprises sélectionnées.

1.2. Collecte des informations

Des entretiens semi-directifs ont été conduits. Ils ont eu pour but de favoriser une expression libre des personnes interrogées, tout en considérant des thématiques pré-ciblées dans un guide : présentation générale de l'entreprise et de la personne interrogée, planification et organisation des chantiers (acteurs impliqués, communication, répartition des rôles, pratiques durant les chantiers), points bloquants et facilitants, points de vue sur l'avenir de l'activité, perspectives et attentes.

1.3. Analyse des discours

Les différents discours ont été retranscris sous la forme d'une fiche de synthèse dont le contenu a été analysé thème par thème. Le but était d'identifier la diversité des discours émis et de faire émerger les éléments clés. Une analyse croisée a alors permis de comprendre et analyser les points critiques de l'étape de ramassage dans sa globalité dans le périmètre cible de l'étude.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. La planification et l'organisation des chantiers de ramassage

Quel que soit le mode d'organisation entre maillons, la planification des chantiers de ramassage s'établi sur la base d'un ordonnancement (besoins en animaux) provenant de l'abattoir, en fonction de ses commandes clients. Un prévisionnel annuel est émis. Il est revu chaque trimestre et ajusté de façon hebdomadaire. L'ordonnancement permet à l'OP-fournisseur de gérer le rétro-planning des mises en place sur le terrain, puis de soumettre une liste de lots d'animaux affiliés aux différentes commandes passées, une fois que ceux-ci sont prêts à être abattus. Pour la filière volailles de chair, une pré-liste est d'abord établie à 6 semaines d'âge des animaux, puis elle est revue à 10 semaines, au regard des contrôles ante-mortem réalisés en élevage. Concernant la filière palmipède à foie gras, qui doit assurer deux circuits de transport des animaux (de l'élevage vers les sites d'engraissement et des sites d'engraissement vers les abattoirs), les plannings de sortie des gras sont établis 6 mois à l'avance. Sur la base de ce même fonctionnement, les modalités d'organisation diffèrent par la suite, au regard des niveaux de contractualisation existants entre les maillons impliqués.

Le premier schéma rencontré repose sur une forte contractualisation entre les maillons, ainsi qu'une proximité géographique entre les acteurs. Dans ce cas, l'abattoir constitue la clé de voûte de la planification et assure un relai d'informations constant avec les maillons associés. Le responsable planification de l'abattoir est alors en charge d'établir les plannings prévisionnels de ramassage (1 semaine à l'avance), de proposer des tournées opérationnelles et optimisées (1 à 2 jours à l'avance) et de s'assurer du relais d'informations auprès des producteurs ainsi que des responsables des maillons « transport » et « ramassage », eux-mêmes en charge du passage des directives auprès des opérateurs de terrain. Les chefs des équipes de ramassage s'assurent alors que leurs équipiers seront présents et contactent en parallèle les producteurs pour reconfirmer avec eux l'horaire ou toutes autres informations utiles, pour le chantier du soir-même.

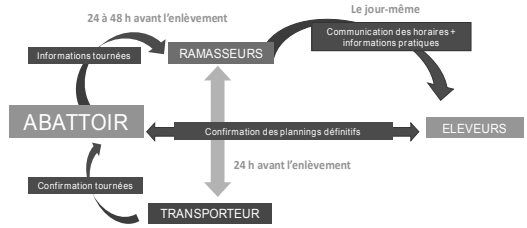


Figure 1 : Schéma d'organisation n°1

Le second type de schéma observé implique des niveaux de contractualisation plus variables entre les maillons. Dans ce cas, les producteurs sont en charge de recruter et de contacter eux-mêmes les équipes de ramassage. Ils sont alors dépendants des plannings ici établis par le transporteur ou l'OP (si le transport y est intégré), et dont l'abattoir-client est tenu informé.

Pour la production de volailles de chair, les dates de de sortie des animaux sont généralement confirmés aux producteurs entre 2 et 5 jours à l'avance, par le transporteur ou l'OP. Les éleveurs peuvent alors communiquer les dates d'enlèvement à leurs équipes de ramassage respectives et confirment les horaires en moyenne 24 à 48 heures à l'avance.

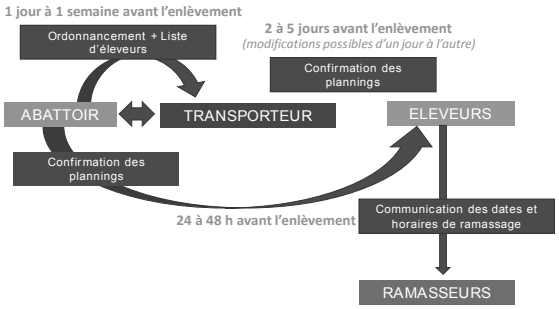


Figure 2 : Schéma d'organisation n°2 - filière volailles de chair

Pour la filière palmipède à foie gras, le transporteur est en charge de contacter et de mettre en relation les éleveurs et les engraisseurs, en répartissant les différents volumes d'animaux. Les acteurs sont ici prévenus très en amont des plannings prévisionnels. Généralement, les producteurs informent leurs équipes de ramassage des plannings provisoires entre 8 et 22 jours avant l'enlèvement et confirment les horaires entre 24 heures et 8 jours en amont.

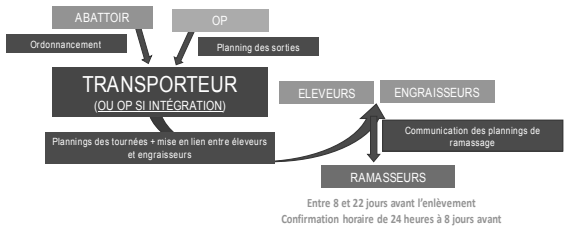


Figure 3 : Schéma d'organisation n°2 - filière palmipèdes à foie gras

Dans le premier schéma, à fort niveau de contractualisation entre maillons, la gestion d'une planification des chantiers en flux tendu est rendue possible à la fois par le fort niveau de communication entre les acteurs et par l'orchestration de l'organisation par l'abattoir. En outre, pour les ramasseurs, ce schéma offre des conditions salariales et de sécurité de l'emploi, relativement supérieures, en comparaison au second schéma d'organisation présenté (contrats CDI, paiement au SMIC horaire avec 5 semaines de congés payés et primes possibles). D'autre part, en contrepartie d'un coût supérieur de la prestation de ramassage pour les producteurs, ceux-ci perçoivent globalement comme confortable le fait de ne pas avoir à gérer l'organisation des chantiers ainsi que le recrutement des équipes de ramassage (facturation de la prestation de ramassage établie par l'OP et paiement forfaitaire au nombre d'animaux à enlever).

Dans le second schéma d'organisation, le recrutement des équipes de ramassage est à la charge des producteurs. En contrepartie d'une plus grande contrainte à trouver et gérer de la main d'œuvre, les éleveurs disposent alors une certaine flexibilité dans le choix et la gestion du personnel intervenant. Les facturations sont établies par les prestataires de ramassage, avec une tarification horaire ; sur la base de contrats, majoritairement établis à l'oral entre les deux parties prenantes. Les ramasseurs sont payés au SMIC horaire avec une prise en compte variable des frais et temps de leurs déplacements. Différentes formes de contrats existent. Dans ce schéma de fonctionnement aux multiples interlocuteurs avec des liens variables, les conséquences d'un fonctionnement en flux tendu sont plus compliquées à appréhender.

2.2. Sources de blocage et de conflits

2.2.1. La planification des chantiers de ramassage

La planification des chantiers est tributaire des débouchés du marché. Le prévisionnel de vente émis par l'abattoir peut subir des modifications de dernières minutes au regard des ventes effectives des différents clients. Ces fluctuations sont d'autant plus fréquentes pour les productions à faibles volumes et avec une grande diversité de cahiers des charges. En outre, les problèmes de communication entre maillons ou la circulation d'informations erronées, dans les volumes d'animaux prêts à être abattus et/ou dans la liste des éleveurs correspondants, représentent d'autant de facteurs compliquant la gestion de la planification des chantiers de ramassage. D'autre part, les problématiques d'organisation ou d'anticipation en interne des entreprises, peuvent aggraver les tensions existantes et ce, particulièrement dans le second schéma d'organisation présenté.

Cette gestion en flux tendu peut avoir des conséquences à différentes échelles. Ainsi, les équipes d'attrapage et les transporteurs, en première ligne, mais aussi les planificateurs, doivent faire preuve d'une adaptabilité et d'une réactivité sans faille. Pour

les éleveurs, la faible anticipation des chantiers peut aussi entrainer des difficultés pour le recrutement des ramasseurs et la gestion de leurs stocks d'aliment, en fin de bande. Ces tensions organisationnelles représentent alors un terreau favorable aux conflits entre les différents maillons et augmentent le risque d'erreurs dans le flux des informations communiquées.

2.2.2. La structuration des sites de production et les équipements mis à disposition

Malgré les efforts considérables mis en œuvre par les producteurs dans la structuration de leurs sites et la mise à disposition d'équipements d'hygiène nécessaires, des défaillances sont encore relevées sur le terrain. En effet, certains sites ne sont pas, ou peu, accessibles pour les camions (présence de zones boueuses, sableuses, trop étroites) et il n'y a pas toujours de quai ou de zone dédiée au chargement. Les problèmes d'accessibilité peuvent engendrer à la fois des risques sécuritaires pour les opérateurs, de casse de matériels pour les transporteurs, ainsi que des décalages dans la planification des chantiers. En cas de problème matériel ou de retards dans les horaires de livraisons, des risques financiers existent alors pour les transporteurs et/ou les abattoirs.

D'autre part, il apparait que certains sites ne disposent pas du minimum sanitaire requis dont des points d'eau permettant aux équipes de nettoyer leurs matériels en fin de chantier. Il peut aussi arriver que les sas présents ne soient pas adaptés et/ou qu'il n'y ait pas de local spécifique, pour que les équipes de ramassage puissent se changer correctement et dans le temps imparti. Ces insuffisances contraignent parfois les attrapeurs à s'équiper à l'extérieur ou dans des abris de fortune, dans des conditions climatiques qui peuvent parfois être très incommodantes.
Ces sites rendent l'application des mesures de biosécurité compliquée sur le terrain et représentent des facteurs accroissant la pénibilité de travail pour les équipes d'attrapage et les chauffeurs. L'enjeu reste pour elles, d'honorer le planning prévisionnel établi, dans des conditions structurelles inappropriées.

2.2.3. L'accueil et l'implication des producteurs durant les chantiers de ramassage

De façon générale, les producteurs réservent un bon accueil aux équipes de ramassage et aux chauffeurs, conscients de la difficulté de la tâche qu'ils accomplissent et reconnaissant son caractère essentiel dans le schéma de production.
Néanmoins, un accueil inhospitalier peut parfois être réservé aux équipes (absence de considération, collation non prévue) et/ou un manque d'implication des producteurs est constaté sur le terrain, dont la présence peut se limiter à donner l'accès aux bâtiments en début de chantier. L'absence d'obligeance et/ou d'implication de l'éleveur peut être perçue par certains ramasseurs et chauffeurs comme une forme de déconsidération de leurs métiers et insuffler un sentiment d'insécurité en cas de problème. D'autre fois, certains producteurs manquent de préparer les chantiers, avec des animaux qui peuvent se retrouver encore à l'extérieur au moment du chargement, faisant perdre du temps aux équipes. Ici, en plus d'accroitre la pénibilité de travail pour les attrapeurs qui devront accélérer leurs rythmes de chargement pour conserver les cadences imposées, cela pourra avoir un impact négatif sur le stress ressenti par les animaux.

2.2.4. La formation et la ponctualité des opérateurs sur le terrain

Sur le terrain, un fort turn-over des équipes d'attrapage est constaté et ne permet pas toujours d'assurer une formation en continue et une familiarisation aux bonnes pratiques attendues. Souvent, les plus anciens qui forment les nouvelles recrues. Toutefois, il peut arriver que certaines consignes, liées au respect du bien-être animal ou à la biosécurité ne soient pas suivies ou mal administrés et qu'un manque d'organisation soit constaté. Ici, le rôle du producteur peut devenir prépondérant, pour assurer tout de même un bon déroulement du chantier.

Aussi, des problématiques de retards et/ou d'absentéisme de ramasseurs et/ou chauffeurs ont été soulevées par certains producteurs. Diverses causes peuvent en être à l'origine : manque de fiabilité de certains équipiers, problèmes survenus lors du chantier précédent, passage d'informations défaillantes, aléas (pannes, accidents). Lorsque cela se produit et qu'aucune solution n'est trouvée, il peut alors être demandé aux opérateurs présents d'accroitre les rythmes de chargement, pour compenser. La pénibilité du travail, les risques d'accident et/ou la non-prise en compte suffisante du bien-être des animaux en sont alors accrus. D'autre part, des risques financiers peuvent aussi être en jeu, dans le cas d'un retard de livraison trop pénalisant pour l'abattoir. Ces situations représentent alors des sources de conflits et de litiges potentiels entre les maillons.

2.2.5. La gestion et l'anticipation des problèmes

Sur le terrain, plusieurs facteurs peuvent enrayer le bon déroulement des chantiers de ramassage. Certaines habitudes ne font qu'empirer les conséquences négatives des problèmes rencontrés. Il a été reconnu que l'absence d'une permanence assurée par les différentes structures de transport, d'abattage et/ou de ramassage et le manque de communication entre les maillons en cas de problème, rendaient difficiles l'anticipation et/ou la mise en œuvre de solutions appropriées (ex : remplacement d'un camion en panne, ajustement de la planification, adaptation de la main d'œuvre mis à disposition, ...).

En parallèle, il apparait que l'absence de feedbacks organisés au sein des entreprises sur la thématique

spécifique du ramassage, représente un frein à la mise en place de solutions appropriées. Lorsqu'au sein des OP, sociétés de transport ou de ramassage, des points réguliers sont organisés entre les opérateurs et leurs responsables, faisant état des points positifs mais aussi d'éventuels disfonctionnements durant les chantiers (organisationnels, relationnels ou encore de pratiques), des actions correctives peuvent plus facilement être mises en place, en concertation avec les acteurs concernés.

2.3. Avenir de l'activité ramassage

Le manque de personnel pour ramasser et transporter les volailles semble être présagé dans un avenir proche, par l'ensemble des acteurs interrogés. La pénibilité physique et psychique du travail est principalement mise en cause. Pour l'activité spécifique de ramassage, vient s'ajouter, le manque de reconnaissance du métier par la société, la non-représentativité du maillon au sein des filières, la faible rémunération des opérateurs ainsi que la concurrence parfois déloyale existantes entre les structures. Pour pallier à ce déficit de main-d'œuvre et encourager une plus grande attractivité et pérennité de l'activité, plusieurs pistes ont été évoquées.

Il a ainsi été noté de favoriser plus largement la mécanisation des chantiers de ramassage. Déjà présente dans les bassins de production de Bretagne et des Pays de la Loire, la mécanisation permet de diminuer la pénibilité de la tâche et requière moins de personnel. Cependant, ces dispositifs ne sont pas adaptés à tous les types de production et l'influence sur le bien-être des animaux nécessite d'être mieux appréhendée. Il est aussi à noter qu'une attention particulière devra être portée à l'image que cela peut véhiculer auprès du grand public.

Par ailleurs, pour pallier aux conséquences des planifications de chantiers en flux tendu et des problématiques de communication entre maillons, il est apparu opportun, pour certains acteurs, de généraliser un schéma d'organisation avec un fort niveau de contractualisation entre maillons. Toutefois, cela pourrait être compliqué à mettre en œuvre structurellement et/ou économiquement, notamment pour des entreprises gérant des volumes d'animaux insuffisants. Aussi, pour certains producteurs, le fait de choisir leurs propres équipes de ramassage et, de surcroit, à des tarifs leurs semblant raisonnables, relève d'un point de satisfaction, qui semblerait difficilement négociable. D'autre part, garantir une meilleure reconnaissance et une plus grande valorisation du métier de ramasseur, tant des points de vue de la société, des filières avicoles, que financièrement ; apparait comme un levier important. Ici, la question de la prise en compte du surcout que cela pourrait engendrer, serait à débattre en prenant compte des différents acteurs concernés.

Les acteurs interrogés ont aussi émis le besoin de construire une charte commune sur la question du ramassage des volailles. L'objectif sous-jacent serait de pouvoir homogénéiser les pratiques sur le terrain, d'acter les niveaux de responsabilités de chacun au cours des chantiers, de garantir une contractualisation des prestataires de ramassage sur une base commune et de fournir un cahier des charges des bonnes pratiques attendues, par l'ensemble des filières avicoles.

CONCLUSION

Cette approche qualitative et transversale a permis d'établir une base de compréhension des modalités de planification et d'organisation des chantiers de ramassage, au regard des niveaux de contractualisation entre maillons.

Au sein du périmètre de l'étude, des points facilitants, bloquants ainsi que des perspectives pour garantir la pérennité de cette activité essentielle aux filières avicoles, ont été mise en évidence.

Cet état des lieux a pour objectif aujourd'hui de servir de socle à la construction de supports de sensibilisation, formation, communication à destination des opérateurs du terrain, pour encourager un bon déroulement des chantiers de ramassage.

Il a aussi pour rôle de favoriser l'émergence et la mise en action concrète de solutions envisagées. Pour ce faire, des espaces de discussion sur l'activité de ramassage sont notamment en cours dans la zone géographique ciblée, animés par la MSA Sud-Aquitaine.

Enfin, en complément d'autres démarches initiées sur le territoire national, et qui ont soulevé les mêmes points bloquants, ce constat pourra trouver un écho à une échelle interprofessionnelle, pour accompagner la professionnalisation et l'encadrement de l'activité de ramassage, aujourd'hui pilier indispensable du processus de production.

Remerciements

Cette étude a été réalisée avec le soutien de la région Nouvelle-Aquitaine et des interprofessions Cifog et l'Airvol. Les auteurs remercient l'ensemble des personnes qui ont contribué à cette étude, en accordant de leurs temps aux entretiens.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dennery G, Gilliot ML, Dassé F, Delaqueze C, Huneau A, Chevalier D, Bignon L, 2015. Tema n°36-déc. 2015, 12-19

Kettlewell PJ, Mitchell MA, 1994. World's Poultry Science. J.50 : 55-57

DIFFICULTES ET OPPORTUNITES DE LA PRODUCTION DE POULETS DE CHAIR POUR LES CIRCUITS COURTS EN REGION CENTRE VAL DE LOIRE

Leterrier Christine[1], Duclos Michel[2]

[1]UMR PRC, INRAE, UNIVERSITE DE TOURS, CNRS, IFCE - Centre Val de Loire - 37380 NOUZILLY,
[1]UMR BOA, INRAE, UNIVERSITE DE TOURS - Centre Val de Loire - 37380 NOUZILLY
christine.leterrier@inrae.fr

RÉSUMÉ

La demande de volailles de qualité distribuées au sein de circuits courts est en augmentation. L'objectif de cette étude a été de rechercher quels étaient les points critiques du développement de la production de poulets à destination des circuits courts en région Centre. Pour cela, des entretiens individuels ont été réalisés avec des éleveurs, des porteurs de projets et des intervenants en aviculture.
Les résultats montrent que, outre les difficultés rencontrées lors de l'installation comme dans d'autres productions, de nombreux freins entravent le développement de cette production : la difficulté d'approvisionnement en poussins de qualité en petit nombre, une grande variabilité de la technicité des acteurs et surtout le manque de structures permettant l'abattage de petits lots. Cette filière comporte cependant de nombreux atouts : une forte motivation des éleveurs et/ou acteurs, des valeurs morales fortes en terme de durabilité (écologie et autonomie en particulier), des territoires traditionnels de production, des débouchés en croissance, une forte image de bien-être des animaux et de qualité du produit. En conclusion, cette production est en pleine évolution et suscite de nombreux intérêts. La valorisation de ce potentiel pourrait être augmentée par une reconnaissance régionale, la mise en place de réseaux d'experts ou d'auto-formation et l'aide à l'installation et aux structures d'abattage.

ABSTRACT
Difficulties and opportunities in producing broiler chickens for short circuits in the Centre Val de Loire region
Demand for quality poultry distributed in short circuits is increasing. The objective of this study was to find out what were the critical points in the development of chicken production for short circuits in the Centre region. To achieve this goal, individual interviews were achieved with farmers, project leaders and poultry stakeholders. The results show that, in addition to the difficulties encountered during installation as in other productions, many obstacles hinder the development of this production: issues in having access to quality chicks in small numbers, a great variability of the technical skills of the actors and especially the lack of structures allowing the slaughter of small lots. However, this sector has many assets as a strong motivation of the farmers and/or the stakeholders, high moral values in terms of sustainability (ecology and autonomy in particular), territories with traditional productions, growing markets, a strong image of animal welfare and product quality. In conclusion, this production is rapidly changing and arouses many interests. The exploitation of this potential could be increased by regional recognition, the establishment of networks of experts or self-training and assistance for the installation processes and slaugtherhouse management.

INTRODUCTION

La région Centre Val de Loire est la zone de production des volailles de Houdan, du Maine, du Gâtinais et de l'Orléanais (DRAAF, 2019) et cette production n'y est pas récente. Des données archéozoologiques produites en région Centre-Val de Loire ont d'ailleurs permis d'établir une cartographie détaillée de la répartition des différents oiseaux de basse-cour entre la Préhistoire et nos jours au sein de cet espace régional (Duval et al 2021).

Plus près de nous, après la seconde guerre mondiale, on trouve des volailles dans toutes les exploitations agricoles. La Touraine, par exemple, est alors caractérisée par un grand nombre d'élevages « industriels » qui vendent des œufs à couver et surtout des poussins d'un jour en Touraine et dans toute la France (Constant et al 1952). Il apparait que les volailles (œufs et poulets) peuvent générer de bons revenus et la production s'intensifie passant du statut d'activité complémentaire à une activité principale dès 1950 (Constant et al 1952). En Région Centre, une polarité s'affirme avec l'intensification de la production de céréales en Eure et Loir et Loiret qui conduit à un besoin de diversification et des élevages sous contrat, tandis qu'au sud de la Loire, la production de volailles se maintient dans des exploitations de polyculture-élevage avec de petits élevages avicoles. Une enquête de 2008 montre que les volailles de qualité en région Centre-Val de Loire sont réparties en 62% de volailles Label, 34% de volailles certifiées, 1% de volailles biologiques et 3% de chapons et poulardes (DRAAF 2019). En 2015, cet ensemble représente 21% de la production de volailles de cette région (DRAAF 2019). En ce qui concerne les fermes certifiées bio et en conversion, elles étaient au nombre de 28 en 2019 pour une production d'environ 343 mille têtes (BioCentre 2020).

C'est dans ce contexte régional que se développe la vente en circuits courts. Ces circuits impliquent un intermédiaire au maximum entre producteurs et consommateurs et les produits sont distribués au travers de la vente à la ferme, des marchés, de paniers ou encore de points de vente collectifs (Darduin et al 2015). Si les circuits courts concernent assez peu de produits carnés (Darduin et al 2015), la demande de volailles de qualité distribuées au sein de ces circuits a peu à peu augmenté alors que l'offre semble encore faible. Cette étude a eu pour objectif de rechercher quels étaient les points critiques de la production de poulets à destination des circuits courts et les leviers utilisables pour développer cette production en région Centre Val de Loire.

1. MATERIELS ET METHODES

L'analyse a été précédée d'une étude préliminaire des données sur la production de poulets de chair biologiques et plein air en région Centre, des difficultés liées à la production de poulets en circuits en courts identifiés par Darduin et al. (2015), ainsi que des freins rencontrés pour la production avec des races locales (URGC, 2018).

Cet examen préliminaire a permis l'élaboration d'un questionnaire semi-ouvert (Tableau) qui a été utilisé lors de rencontres d'une heure environ. Ont été interviewés des éleveurs produisant en circuits courts, des porteurs de projet d'installation, des représentants de syndicats agricoles, d'organisation de production, de communautés de communes, d'une vétérinaire spécialisée en aviculture biologique et d'une conseillère de chambre d'agriculture. Les éleveurs rencontrés produisaient des poulets de chair en plein air et l'entretien s'est focalisé sur cette production, mais ils étaient également producteurs d'œufs et un seul n'était pas certifié biologique. Les informations produites par ces entretiens ont été interprétées au regard des bilans fournis par BioCentre pour la production en agriculture biologique, des documents de formation à destination des agriculteurs et ont permis de hiérarchiser les difficultés rencontrées par les éleveurs.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

A la question « Pour vous, quelles sont les difficultés rencontrées en aviculture en circuits courts ? » (Tableau), l'installation et l'abattage ont été très fréquemment nommés. Viennent ensuite les questions liées à la production et la formation de l'éleveur ou de l'éleveuse. Les débouchés et les revenus ne sont pas à proprement parler des freins évoqués.

Les difficultés d'installation

Parmi les difficultés, l'accès au foncier est souvent mentionné. En effet, les porteurs de projet ne peuvent investir de grosses sommes, or l'opportunité d'acheter de petites surfaces est rare. A une offre faible, s'ajoute également un coût de l'installation accru par l'augmentation des normes sanitaires vis-à-vis de la grippe aviaire. De plus, les instances qui évaluent les projets au niveau des chambres d'agriculture manquent souvent de références sur ce type d'exploitation, et évaluent parfois défavorablement ces « petits » projets qui ne sont pas stabilisés économiquement par des revenus issus des primes à l'hectare de la politique agricole commune. L'attribution de DJA (dotation aux jeunes

agriculteurs) peut être pénalisée par le manque de connaissance d'exemples qui fonctionnent. Pourtant, chez les personnes déjà installées, les retours sur le passé montrent que cette crainte ne devrait pas persister si l'on s'assure d'une bonne formation technique du porteur de projet. Une conseillère de chambre d'agriculture mentionne que certaines régions offrent des aides qui facilitent l'installation des porteurs de projets, ce qui n'est pas le cas en Région Centre Val de Loire.

Les difficultés de production

L'accès aux ressources et les normes sanitaires apparaissent fréquemment parmi les contraintes perçues. Les poussins sont les premières ressources signalées. Certains se plaignent de la qualité des poussins, car ils ont besoin de petits effectifs et les couvoirs ne semblent pas privilégier ce type de clients, se pose également la question du génotype. La plupart des éleveurs fonctionnent avec des croisements car ceux-ci présentent un indice de consommation intéressant qui évite des frais d'aliment élevés, en particulier en production bio où l'aliment à un fort coût et surtout si les éleveurs ne disposent pas d'assez de surface pour produire leurs céréales. Néanmoins, un besoin d'identification du produit est mentionné, certains éleveurs souhaiteraient disposer de races qui permettent d'identifier le territoire et de signer une production locale, néanmoins, bien que la région dispose de nombreuses races (Noire du Berry, Géline de Touraine, Gâtinaise, Houdan, ...), les performances zootechniques des races ne permettent pas d'atteindre les objectifs économiques de nombreux éleveurs qui renoncent à leur utilisation ou qui abandonnent le projet. Un éleveur mentionne également l'intérêt de volailles à double-fin, qui permettraient la production d'œufs avec les femelles et de viande avec les mâles.

L'accès à des céréales locales hors de l'exploitation s'avère également une difficulté pour certaines exploitations qui ne produisent pas leurs propres céréales. Enfin, les normes sanitaires sont fréquemment mentionnées. Alors que les éleveurs misent sur la petite taille du troupeau et la faible densité pour éviter de nombreux problèmes infectieux, qu'ils tablent sur la qualité du parcours pour satisfaire les besoins comportementaux des volailles, ils aimeraient faire appel davantage à des méthodes alternatives pour prévenir et traiter les animaux. L'imposition de sas et autres barrières de biosécurité, est remise en cause dans un contexte d'élevage où des animaux sauvages sont susceptibles de véhiculer de nombreux germes. Enfin, la prédation par les prédateurs aériens ou terrestres reste une difficulté chez les jeunes éleveurs, elle n'est en rien spécifique au circuit court, mais ce type d'élevage recrute des personnes qui ont technicité parfois faible et manquent de formation et cette question est souvent sous-estimée par certains porteurs de projet.

Les difficultés liées à l'abattage

La question de l'abattage est absolument critique dans cette production. La production en circuits courts va de pair avec un élevage de bandes de faible effectif de manière à pouvoir trouver des débouchés et gérer une distribution sans intermédiaire. Les personnes doivent donc trouver des abattoirs qui acceptent d'abattre de petits lots et ceci est une importante difficulté. Certains éleveurs ont résolu le problème en pratiquant l'‘abattage à la ferme, mais tous ne sont prêts à recourir à cette solution, qui demande une technicité, un équipement, mais surtout la réalisation d'actes qu'ils ne souhaitent pas pratiquer. Pour cette raison, certains renoncent car ils ne trouvent pas d'abattoir qui offrent ces prestations. Certains participent à l'abattage dans des abattoirs locaux, mais ceci demande à l'éleveur beaucoup de temps (transport, acte d'abattage, mais participation parfois à la gestion des structures) et l'entretien de ces structures est difficilement rentable, nécessitant parfois l'aide des communautés de commune. C'est pourquoi une solution pour développer ces productions pour les circuits courts serait indéniablement de repenser à la politique de maintien d'abattoirs de proximité, qui est d'ailleurs une revendication de plusieurs syndicats agricoles.

Les débouchés

Ces difficultés ne sont pas mentionnées. La demande de poulets élevés en plein air distribués en circuits courts est importante et les producteurs ne mentionnent pas de difficultés particulières. Ils ou elles mentionnent surtout le temps nécessaire pour cette commercialisation qui exige de la présence sur les marchés et dans les magasins de producteurs. Les producteurs qui fournissent des AMAP (Associations pour le Maintien de l'Agriculture Paysanne) et/ou qui vendent à la ferme, mentionnent moins cette contrainte. Certains producteurs vendent en région parisienne et font de longs déplacements pour cela, mais ils n'évoquent pas cette question du temps passé puisqu'il s'agit d'un choix et qu'ils pourraient avoir des débouchés locaux. Une difficulté apparait cependant, celle de la fourniture de poulets pour la restauration collective. Même si beaucoup d'établissements souhaitent que les cantines soient fournies avec des produits locaux, l'approvisionnement en poulets restent délicat. D'une part, les normes interdisent l'accès des cantines aux éleveurs pratiquant l'abattage à la ferme, mais surtout, de nombreuses contraintes apparaissent pour l'adéquation des normes et des effectifs vis-à-vis de la demande, les exigences logistiques limitant également l'utilisation de ce produit (temps de découpe,

nécessité de fours ou autre matériel pour optimiser l'utilisation du poulet fourni entier et non plus sous forme de morceaux).

Les revenus de l'éleveur

Ils n'apparaissent pas comme une difficulté car les éleveurs estiment « bien » vendre leurs produits. Les réponses s'orientent davantage sur le temps de travail que beaucoup aimeraient réduire, mais il n'y a pas de plainte spécifique car il s'agit de personnes très motivées, souvent fières de leur façon de produire et de leur valeur en particulier en terme de qualité des produits, respect de l'environnement du bien-être animal, et le souhait de contribuer à un système agricole réellement durables. En effet, pour de nombreux éleveurs en production bio, il est fait référence à une durabilité élevée qui peut seulement être atteinte par une production avec de bas intrants et une distribution en circuits courts. La principale difficulté est celle mentionnée d'entre d'autres types d'élevage, c'est-à-dire les difficultés à se faire remplacer pour avoir du temps libre et des libertés.

La formation des éleveurs

La formation n'est pas considérée comme un frein par les éleveurs eux-mêmes et par les porteurs de projets. Pourtant, les acteurs extérieurs à l'exploitation constatent un manque de technicité de nombreux nouveaux éleveurs qui les conduit à commettre des erreurs et entrave la viabilité des projets. Néanmoins, les actions de formation ne trouvent pas de volontaires, car comme dans d'autres systèmes, l'offre de formation ne semble pas correspondre à sa cible, les uns souhaitant des formations sur internet, les autres jugeant les formations trop générales et trop consommatrices en temps. La spécificité de ces élevages est que leur petite taille permet aux nouveaux éleveurs d'adapter peu à peu leur outil et de corriger leurs erreurs. La région Centre Val de Loire a beau offrir certaines formations, celles–ci ne sont identifiées par tous les porteurs de projet et elles semblent faire peu d'adeptes dans cette population, l'idée générale restant souvent qu'il est facile d'élever des poulets, en référence souvent un élevage plus complexe des ruminants et des porcs. Globalement, la technicité présente des niveaux très variées, de faible à très élevé, et semble un indicateur important de la durabilité de l'exploitation. En effet, les éleveurs qui connaissent bien le potentiel génétique des croisements utilisés et qui ont de bonnes connaissances en nutrition et en gestion du parcours, s'avèrent généralement satisfaits de leur travail et de leurs résultats technico-économiques.

Les forces

La production de poulets de chairs bénéficie d'avantages que n'ont pas d'autres productions animales pour lesquelles les coûts de bâtiments et d'élevage sont souvent très contraignants pour les éleveurs. L'élevage de poulets de chair permet de limiter ces contraintes avec une durée d'élevage courte. Cette production est basée sur des troupeaux de petite taille élevés à faible densité ce qui limite l'occurrence des problèmes infectieux. L'élevage plein-air est le « plus » qui apporte de la plus-value au produit et en circuits courts, la vente est facilitée par une demande soutenue (voir ci-dessus), même si le volume fourni aux restaurateurs est faible. En élevage biologique, la faible utilisation de pesticides pour produire une tonne de carcasse (8 pour une valeur de 100 en élevage conventionnel, Guémené et al, 2009) apporte une plus-value appréciée par les acheteurs soucieux de leur santé et de l'environnement. L'élevage avec une certification biologique bénéficie également d'une opportunité supplémentaire puisque la réglementation impose que les céréales biologiques bénéficient de matières organiques biologiques, ce qui ajoute une plus-value aux fumures produites par ces élevages. Enfin, ces élevages bénéficient d'acteurs motivés et créatifs qui n'hésitent à faire visiter leur ferme, et investissent du temps dans le lien entre l'éleveur et le consommateur.

CONCLUSION

Ces résultats montrent que, outre les difficultés rencontrées lors de l'installation comme dans d'autres productions, de plusieurs freins entravent le développement de cette production : la difficulté d'approvisionnement en poussins de qualité en petit nombre, une grande variabilité de la technicité des éleveurs et surtout le manque de structures permettant l'abattage de petits lots. Cette filière comporte cependant de nombreux atouts : une forte motivation des éleveurs et/ou acteurs, des valeurs fortes en terme de durabilité (écologie et autonomie en particulier), des territoires traditionnels de production, des débouchés en croissance, une forte image de bien-être des animaux et de qualité du produit. Cette production est en pleine évolution et suscite de nombreux intérêts. La valorisation de ce potentiel pourrait être augmentée par une reconnaissance régionale, la mise en place de réseaux d'experts ou d'auto-formation et l'aide locale aux structures d'abattage. L'amélioration de certains points critiques semble pouvoir être facilitée par le partage d'exemples entre régions.

REMERCIEMENTS

Nous remercions toutes les personnes qui ont accepté de participer aux entretiens. Cette étude est issue de l'ARD Volailles, projet soutenu par la région Centre Val de Loire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Biocentre, 2020. Bio Centre Mag, 14, 27.

Constant G., Mestat P., Fatoux A., Mérillon R., 1952. In : Terre de Touraine. Ed. Direction des services agricoles d'Indre et Loire. 574 pages.

Darduin U, Delanoë M, Nicourt C, Cabaret J., 2015. INRA Prod. Anim., 28(3), 271-280.

DRAAF Centre-Val de Loire, 2019. La filière volaille. 37 pages. https://draaf.centre-val-de-loire.agriculture.gouv.fr/Les-dossiers-filieres-animales

DRAAF Centre-Val de Loire, 2016. Les abattoir en région Centre. https://draaf.centre-val-de-loire.agriculture.gouv.fr/Les-abattoirs-en-region-Centre-Val

Duval C., Bayle G., Braguier S., Cotté O., Fontaine O., Genies C., Poupon F., Rivière J., Salin M., Horard-Herbin M.P., 2021. Revue archéologique de centre de la France 60. https://journals.openedition.org/racf/50

Guémené D., Germain K., Aubert C., Bouvarel I., Cabaret J., Chapuis H., Corson M., Jondreville C., Juin H., Lessire M., Lubac S., Magdelaine P., Leroyer J., 2009. INRA Prod. Anim., 22(3), 161-178.

URGC, 2018. Pré-analyse des freins à l'installation en races locales. Document de l'Union pour les Ressources Génétiques du Centre-Val de Loire. 1 page.

Tableau : Questionnaire destiné aux entretiens individuels

D'après vous, quels sont les freins au développement de l'aviculture en circuits courts ?	
1- Quelle est votre position ?	
Eleveur installé	En production de volailles de chair
Non installé avec un projet d'installation	En production d'œufs
Ancien éleveur	En production biologique
Intervenant de la filière avicole	
2-Pour vous, quelles sont les difficultés rencontrées en aviculture en circuits courts ?	
Pouvez les hiérarchiser ?	
L'installation	Les revenus de l'éleveur
La production	La formation à ce type de production
L'abattage	Autre
Les débouchés	
3- Les difficultés d'installation sont liées à :	
L'accès au foncier	Les relations avec les services vétérinaires
Les relations avec les banques	Autres :
Les relations avec les structures territoriales	
4- Les difficultés de production sont liées à :	
L'accès à des poussins ou volailles d'un génotype particulier	La construction ou l'acquisition d'un bâtiment d'élevage
Le coût de ces poussins ou volailles	Le coût des bâtiments d'élevage
L'accès à des céréales d'intérêt	Les problèmes de santé des animaux
Le coût de ces céréales	Les normes sanitaires
Le coût de l'aliment complet ou des suppléments protéiques	Autres :
5- Les difficultés de l'abattage sont liées à :	
Manque d'abattoirs	Difficultés administratives lors de l'abattage à la ferme
Eloignement de l'abattoir	Autres :
6- Les problèmes liés aux débouchés proviennent de :	
Manque de marchés de producteurs	Manque de restaurateurs intéressés par ces produits
Manque de magasins de producteurs	Eloignement des grandes villes
Exigence trop complexe de la restauration collective	Coût de transport lors de la vente hors Région Centre
Coût de la vente en magasin	Autres :
Manque d'AMAPs	
7- Les problèmes liés aux revenus de l'éleveur :	
Difficulté de vendre à un prix permettant de rembourser ses charges	Revenus insuffisants pour payer de l'aide pour se faire remplacer
Difficulté de valoriser son temps de travail	Difficulté à obtenir des aides
Revenus qui ne permettent pas d'investir dans l'outil de travail	Autres :
8- La formation constituerait un frein en raison de :	
Manque de formation avec un contenu technique adapté	Les établissements de formation sont trop loin
Formation trop généraliste	Difficile de savoir où sont ces formations
La formation existe mais elle prend trop de temps	Autres :
La formation existe mais il n'y a pas assez de stage	
Autres difficultés que vous voudriez signaler ?	

DIFFICULTÉS ET OPPORTUNITÉS DE LA PRODUCTION DE POULETS DE CHAIR POUR LES CIRCUITS COURTS EN RÉGION CENTRE VAL DE LOIRE

Leterrier Christine[1]
Duclos Michel[2]

[1]*UMR PRC, INRAE, UNIVERSITE DE TOURS, CNRS, IFCE*
[2]*UMR BOA, INRAE, UNIVERSITE DE TOURS*
Centre Val de Loire - 37380 NOUZILLY

Objectif de l'étude : Rechercher les points critiques et les atouts du développement de la production de poulets à destination des circuits courts en région Centre.

Méthode : Des entretiens individuels réalisés avec des éleveurs, des porteurs de projets et des intervenants en aviculture.

Freins

Difficultés « classiques » de l'installation (accès à la terre, perception négative des petits projets, etc.)

Ressources (poussins, aliments)

Normes sanitaires

Grande variabilité de la technicité des acteurs

Manque de petits abattoirs

Opportunités

Des territoires traditionnels de production
Forte motivation des éleveurs et acteurs
Débouchés en croissance
Forte image de bien-être des animaux et de qualité du produit

Conclusion

Production en pleine évolution qui suscite de nombreux intérêts.
Un potentiel qui pourrait être valorisé par :
une reconnaissance régionale
la mise en place de réseaux d'experts ou d'auto-formation
l'aide à l'installation et aux structures d'abattage

Nous remercions toutes les personnes qui ont accepté de participer aux entretiens. Cette étude est issue du projet Volailles soutenu par la région Centre Val de Loire.

SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

SESSION

GENETIQUE - REPRODUCTION

Posters

ÉLIMINATION DU GLYCÉROL DE LA SEMENCE DÉCONGELÉE DE COQ PAR CENTRIFUGATION DANS UN GEL COLLOÏDAL SYNTHÉTIQUE

Lin Hsiu-Lien Herbie[12], Grasseau Isabelle[1], Mermillod Pascal[1], Blesbois Elisabeth[1], Vitorino Carvalho Anaïs[1]

[1]PRC, UMR085, INRAE, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France
[2]Physiology Division, Livestock Research Institute, COA, 71246 Tainan, Taiwan
Anais.Carvalho@inrae.fr

RÉSUMÉ

La cryoconservation des spermatozoïdes est une méthode cruciale dans la conservation de la biodiversité des espèces et des races, mais aussi pour assurer la restauration des lignées lors de catastrophes sanitaires. Actuellement, le glycérol est l'agent cryoprotecteur le plus utilisé pour la cryoconservation des spermatozoïdes de coq, étant le plus efficace dans le maintien des fonctions du spermatozoïde, mais il est associé à un taux de réussite faible voir une totale stérilité lors de l'insémination. Par conséquent, nous cherchons à développer une méthode simple d'élimination du glycérol par centrifugation dans un gel colloïdal synthétique, le Percoll®. Après collecte, la semence de coqs a été congelée en glycérol 11% en paillettes avec un congélateur programmable. Lors de la décongélation, la semence a été déposée sur une solution de sucrose (200 mM) en présence de Percoll® (Solution Sucrose-Percoll®, SSP) dans du PBS puis centrifugée 15 min. Afin de définir les meilleures conditions, différentes concentrations de SSP (40, 50, 60 ou 70%) ainsi que deux températures (4 ou 20°C) ont été testées. La concentration de glycérol et la mobilité individuelle des spermatozoïdes ont été évaluées après centrifugation respectivement par le kit Glycerol Assay et par Computer-Assisted Sperm Analysis system (CASA). Nos données montrent que toutes les concentrations de SSP réduisent la présence de glycérol à moins de 120 mM (soit une élimination de 94% du glycérol initial). La centrifugation à 20°C permet une bonne sélection des spermatozoïdes mobiles et progressifs, en particulier pour SSP 40 et 70%. Notre nouvelle méthode permet donc d'éliminer efficacement le glycérol des semences de coq cryopréservées tout en sélectionnant les spermatozoïdes présentant une bonne mobilité. Comparée à la méthode conventionnelle de dilutions successives, elle permet de gagner 44% de temps de traitement des échantillons lors de l'élimination du glycérol.

ABSTRACT

Sperm cryopreservation is a crucial method not only to conserve the biodiversity of species and breeds, but also to restore animal populations during emergent epidemics. Currently, glycerol is the most widely used cryoprotectant to freeze chicken sperm due to its effectiveness for maintaining sperm functions, but it is associated with a reduction of fertility or a total infertility during insemination. Therefore, we tried to develop a simple method to remove glycerol from frozen-thawed chicken semen with a centrifugation in a synthetic colloidal gel, the Percoll®. After collecting, chicken semen was frozen in a diluent of 11% glycerol in straws with a programmable freezer. Thawed semen was layered on the solution containing 200 mM sucrose and Percoll® (Solution Sucrose-Percoll®, SSP) in PBS and centrifuged 15 min after. Different concentrations of SSP (40, 50, 60 or 70%) combined with two different temperatures (4 or 20°C) were tested to determine the best conditions of SSP centrifugation. Glycerol concentration and sperm individual motility were evaluated respectively by Glycerol Assay kit and Computer-Assisted Sperm Analysis system (CASA). Our results showed that all concentrations of SSP efficiently reduce glycerol concentration to less than 120 mM (equal to remove 94% of glycerol from thawed semen). Centrifugation at 20°C allowed an efficient selection for motile and progressive sperm especially with SSP 40 and 70%. It indicated that our novel method can efficiently remove glycerol from post-thaw chicken semen with a positive selection of motile sperm. Compared to the conventional method of serial dilutions, it can save 44% of time of glycerol removal process.

INTRODUCTION

La conservation des ressources génétiques est une stratégie cruciale pour protéger la biodiversité, restaurer des espèces ou races menacées et contrer les épidémies ou les accidents de reproduction (Morrell and Mayer, 2017; Svoradová *et al*., 2018). Trois types cellulaires sont actuellement disponibles pour la cryobanque chez les oiseaux : les spermatozoïdes, les cellules germinales primordiales et le tissu gonadique. Parmi toutes ces méthodes, la cryoconservation des spermatozoïdes reste encore l'approche la plus répandue car elle se base sur la collecte de grandes quantités de cellules, le respect du bien-être animal, et la possibilité d'un stockage long ainsi que d'échanges de ressources à longue distance (Çiftci and Aygün 2018; Thélie *et al*., 2019; Cardoso *et al*., 2020). Actuellement, le glycérol est le cryoprotecteur le plus utilisé pour congeler les spermatozoïdes de coq (Abouelezz *et al*., 2015 ; Lin *et al*., 2021). Il fournit une excellente protection des spermatozoïdes leur permettant de résister aux impacts négatifs du processus congélation/décongélation (Blesbois and Brillard, 2007; Blesbois *et al*., 2007). Cependant, il est associé à une baisse de la fertilité pouvant être totale et il doit donc être éliminé avant l'insémination (Seigneurin and Blesbois, 1995; Thélie *et al*., 2019). Néanmoins jusqu'à présent, le processus d'élimination du glycérol est compliqué et se base sur des équipements particuliers (dont une chambre froide). Par conséquent, nous cherchons à développer une nouvelle méthode simple d'élimination du glycérol de la semence de coq décongelée, se basant sur le Percoll®, un gel classiquement utilisé pour sélectionner les spermatozoïdes mobiles chez les mammifères mais également sur de la semence fraiche de coq (*Lin et al*., 2020).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

18 coqs adultes (entre 32 et 42 semaines d'âge) de lignée T44 (*Gallus gallus domesticus*, Sasso, France) ont été utilisés comme donneurs de semence. Tous les coqs ont été hébergés en cages individuelles à l'unité expérimentale INRAe UE-PEAT (2018, https://doi.org/10.15454/1.5572326250887292E12), nourris avec un régime standard, de l'eau à volonté et élevés à 20°C et sous un cycle lumineux de 14h de lumière et 10h d'obscurité par jour. Ce protocole expérimental a été approuvé par le Ministère de l'Éducation Supérieure, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI) et le comité d'éthique Val-de-Loire (N° APAFIS #4026-2016021015509521).

1.2. Collecte, congélation et décongélation de la semence

La semence de coq a été collecté régulièrement deux fois par semaine par la méthode de massage abdominal (Burrows et Quinn, 1937). Trois groupes de 6 animaux ont été formés de façon aléatoire pour regrouper les semences dans un volume de Lake PC similaire à celui de collecte puis mélangés doucement et refroidis à 4°C pendant 10 min. Un volume égal de Lake PC contenant 22% de glycérol a été ajouté pour atteindre une concentration finale de 11% de glycérol, puis l'échantillon a été équilibré à 4°C avec une agitation douce pendant 10 min. Par la suite, la semence a été déposée dans des paillettes de 0,5 mL (IMV Technologies, France). Toutes les paillettes ont été scellées, transférées dans un congélateur programmable (MiniDigitcool, IMV Technologies, France) et congelées à vitesse contrôlée de 4 à -35°C à -7 °C/min puis de -35 à -140°C à -20 °C/min. Finalement, les paillettes ont été plongées dans de l'azote liquide pour une conservation d'au moins 14 jours et décongelées au bain-marie à 4°C pendant 3 min pour la suite des expériences.

1.3. Préparation de Solution Sucrose-Percoll® et élimination du glycérol

La solution de Sucrose-Percoll® (SSP) a été préparée en ajoutant du Percoll® (Sigma-Aldrich, USA) isotonique et du sucrose 200 mM pour composer 40, 50, 60 ou 70% de SSP dans du PBS, puis 2 mL de SSP ont été transférés dans un tube conique de 15 mL. La semence décongelée (5 répliques) a été déposée sur 2 mL de SSP et centrifugée 15 min à 800×g à 4 ou 20°C. Le culot de spermatozoïdes a été collecté et remis en suspension avec le dilueur Lake 7.1. Les témoins étaient la semence décongelée sans élimination du glycérol.

1.4. Évaluation de la concentration de glycérol et de la mobilité individuelle des spermatozoïdes

La concentration de glycérol a été mesurée selon les instructions du kit Glycerol Assay (Sigma-Aldrich, USA) sur 10 µL d'échantillon. La mobilité individuelle des spermatozoïdes a été mesurée au Computer-Assisted Sperm Analysis system (CASA, IVOS, IMV Technologies, France) sur 2 µL d'échantillon à 30×10^6 cellules/mL. Quatre champs d'observation ont été capturés pour chaque échantillon. La trajectoire de chaque spermatozoïde a été enregistrée afin de calculer sa vitesse moyenne (velocity average path, VAP). Les résultats de mobilité ont été exprimés en pourcentage de spermatozoïdes mobiles et progressifs qui ont présenté respectivement une VAP > 5 mm/s et VAP > 50 mm/s.

1.5. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel R (version 1.4.1717) par ANOVA à deux facteurs. Les résultats sont exprimés en moyennes et écart-type. Une différence significative est révélée par une p-valeur inférieure à 0,05%.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Concentration de glycérol après centrifugation

Nos données révèlent une réduction significative de la concentration de glycérol après traitement de la semence par une solution SSP (quelque soit la concentration de Percoll)(Tableau 1). En effet, alors que la concentration moyenne de glycérol de la semence décongelée est de 1866,3 mM, après centrifugation dans SSP, elle est réduite à moins de 120 mM dans tous les traitements (Tableau 2). Ces résultats révèlent que notre nouvelle méthode d'élimination du glycérol peut éliminer au moins 93,6% du glycérol de la semence décongelée. Des expériences antérieures indiquent que 2% de glycérol (soit environ 273.4 mM) est le seuil maximal pour obtenir la capacité maximale de fécondation (Polge, 1951; Neville *et al*., 1971). Ainsi, notre méthode permet d'obtenir une concentration de glycérol compatible avec de bonnes conditions d'insémination.

2.2. Mobilité des spermatozoïdes après centrifugation

La mobilité des spermatozoïdes décongelés est un indicateur de leur capacité fécondante chez les poulets (Blesbois *et al*., 2008). C'est pourquoi nous avons choisi d'étudier ce critère comme prédicteur potentiel de la fertilité. La concentration de SSP, la température mais également l'interaction de ces deux facteurs ont un impact significatif sur la mobilité des spermatozoïdes (Tableau 1). La mobilité des spermatozoïdes dans l'échantillon témoin diminue de façon importante à 20°C mais pas à 4°C dans les 15 min suivant la décongélation (Tableau 2). L'élimination du glycérol par notre protocole à 4°C ne montre aucune différence significative de la mobilité des spermatozoïdes. Cependant, le même protocole à 20°C améliore la mobilité des spermatozoïdes, en particulier dans le traitement SSP 70% qui maintient le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et progressifs à respectivement de 25,1% et 15,2% plus élevés que le témoin. Cette observation est en accord avec celle précédemment rapportée par Lin *et al*., (2020) qui signalent que la centrifugation de semence sur une solution de Percoll® est bénéfique pour sélectionner les spermatozoïdes mobiles d'une semence fraîche de coq. En outre, un protocole basé sur un autre gel colloïdal, le gel Accudenz (AD), est déjà utilisé pour éliminer le glycérol de la semence décongelée de coq par centrifugation dans la solution AD discontinue (12% sur 30%) à 5°C (Purdy *et al*., 2009). Cependant, nos données suggèrent une meilleure mobilité des spermatozoïdes. La comparaison des deux protocoles dans les mêmes conditions permettrait d'identifier la méthode plus efficace.

De plus, les taux de mobilité observés à 20°C après centrifugation en SSP sont équivalents à ceux obtenus à 4°C, suggérant que ce protocole peut facilement être développé à température ambiante.

2.3. Durée du protocole d'élimination du glycérol

Actuellement, la centrifugation avec dilutions en série (CDS) est la méthode la plus courante pour réduire la concentration de glycérol de la semence décongelée de coq (Blesbois and Brillard, 2007). Toutefois, cette méthode nécessite de travailler pendant de long temps (Tableau 3). De plus, cette méthode ainsi que celle précédemment présentée basée sur le gel AD nécessite de travailler à 4°C, et donc la présence d'une chambre froide, ce qui est difficile à mettre en pratique dans les élevages. Au contraire, notre nouvelle méthode d'élimination du glycérol n'a pas besoin de la chambre froide et la centrifugation ne prend que 15 min, ce qui permet gagner respectivement 40% et 44,4% de temps par rapport à la méthode d'AD et de CDS.

CONCLUSIONS

Nos données montrent l'efficacité d'une nouvelle méthode d'élimination du glycérol de la semence décongelée de coq basée sur le gel Percoll®. Cette méthode permet d'éliminer efficacement le glycérol de la semence décongelée tout en sélectionnant les spermatozoïdes présentant une meilleure mobilité. Par rapport à la méthode CDS conventionnelle ou celle basée sur le gel AD, elle est plus économique, à la fois en temps et en équipement car elle peut être employée à température ambiante et éviter donc la nécessité d'une chambre froide. Actuellement, des expériences sont en cours pour déterminer l'impact de cette méthode sur la réussite de l'insémination artificielle.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Philippe Didier, Joël Delaveau et Jérémy Bernard (INRAe UE-PEAT) pour leur investissement dans la gestion des animaux. Ce projet est financé par le projet [ANR-11- INBS-0003].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abouelezz F. Castaño C. Toledano-Díaz A. Esteso M. López-Sebastián A. Campo J. and Santiago-Moreno J., 2015. Theriogenology, (83), 1541–1547.

Blesbois E. and Brillard J. P., 2007. Animal, (1), 1472-1481.

Blesbois E., 2007. World's Poult. Sci. J., (63), 213-222.

Blesbois E. Grasseau I. Seigneurin F. Mignon-Grasteau S. Saint Jalme M. and Mialon M. M., 2008. Theriogenology, (69), 252–261.

Burrows W. and Quinn J., 1937. Poult. Sci., (16), 19-24.
Cardoso B. Sánchez-Ajofrín I. Castaño C. García-Álvarez O. Esteso M. C. Maroto-Morales A. Iniesta-Cuerda M. Garde J. J. Santiago-Moreno J. and Soler A. J., 2020. Animals, (10), 691., doi: 10.3390/ani10040691.
Çiftci H. and Aygün A., 2018. World's Poult. Sci. J., (74), 699-710.
Lin H. Chen Y. Lin D. Lai Y. Wu M. and Chen L., 2020. Br. Poult. Sci., (61), 86-91.
Lin H. H. Blesbois E. and Vitorino Carvalho A., 2021. World's Poult. Sci. J., doi: 10.1080/00439339.2022.1998816
Moore S. and Hasler J., 2017. J. of Dairy Sci., (100), 10314-10331.
Neville W. Macpherson J. and Reinhart B., 1971. Poult. Sci., (50), 1411-1415.
Polge C., 1951. Nature, (167), 949-950.
Purdy P. Song Y. Silversides F. and Blackburn H., 2009. Poult. Sci., (88), 2184-2191.
Seigneurin F. and Blesbois E., 1995. Theriogenology, (43), 1351-1358.
Svoradová A. Kuželová L. Vašíček J. Olexíková L. and Chrenek P., 2018. Biotechnol. Prog., (34), 778-783.
Thélie A. Bailliard A. Seigneurin F. Zerjal T. Tixier-Boichard M. and Blesbois E., 2019. Poult. Sci., (98), 447-455.

Tableau 1. Effets de la température et la concentration de Solution Sucrose-Percoll® sur la concentration de glycérol, le pourcentage des spermatozoïdes mobiles et progressifs

	Statistique (p-valeur)		
	Température	**Concentration de SSP**	**Température* Concentration de SSP**
Concentration de glycérol	0.633	<0,001	0.460
Spermatozoïdes mobiles	<0,001	<0,001	<0,001
Spermatozoïdes progressifs	<0,001	<0,001	0.002

SSP : Solution Sucrose-Percoll®. Une p-valeur inférieure à 0,05 est considérée comme significative.

Tableau 2. Effets sur la concentration de glycérol, le pourcentage des spermatozoïdes mobiles et progressifs de la semence décongelée de coq après centrifugation dans Solution Sucrose-Percoll®

	4°C					**20°C**				
	TEM	**SSP 40%**	**SSP 50%**	**SSP 60%**	**SSP 70%**	**TEM**	**SSP 40%**	**SSP 50%**	**SSP 60%**	**SSP 70%**
Concentration de glycérol (mM)	1885,1 ± 73,1^{a}	80.8 ± 10,5^{b}	79.1 ± 16,7^{b}	85.0 ± 17,9^{b}	118.8 ± 12,9^{b}	1847.5 ± 80,5^{a}	74.4 ± 20,3^{b}	76.8 ± 22,7^{b}	112.5 ± 19,5^{b}	111.9 ± 21,5^{b}
Spermatozoïdes mobiles (%)	44.0 ± 3,9^{ab}	46.1 ± 3,7^{ab}	43.1 ± 5,2^{ab}	42.5 ± 4,6^{ab}	46.4 ± 3,6^{ab}	25.4 ± 3,3^{c}	42.5 ± 3,4^{ab}	39.9 ± 4,4^{a}	40.1 ± 3,7^{a}	50.5 ± 5,5^{b}
Spermatozoïdes progressifs (%)	28.3 ± 2,0^{ab}	31.6 ± 3,1^{a}	28.5 ± 3,7^{ab}	27.6 ± 3,5^{ab}	30.6 ± 2,9^{ab}	16.5 ± 3,7^{c}	26.4 ± 2,6^{ab}	24.1 ± 3,5^{b}	24.9 ± 2,5^{ab}	31.7 ± 4,9^{a}

TEM : échantillon témoin ; SSP : Solution Sucrose-Percoll® ; Les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart-type (n = 5) ; ^{abc} Des exposants différents indiquent des différences significatives (p-valeur<0,05).

Tableau 3. Comparaisons des méthodes d'élimination du glycérol entre la centrifugation par Sucrose-Percoll® solution, Accudenz et avec dilutions en série

	Solution	Dilution		Centrifugation		
		T (°C)	Time (min)	Force (g)	T (°C)	Time (min)
SPS	Sucrose-Percoll®	-	0	800	4 or 20	15
AD	Accudenz discontinu	-	0	300	5	25
CDS	Lake C	4	12	500	4	15

SSP : Solution Sucrose-Percoll® ; AD : Accudenz ; CDS : centrifugation avec dilutions en série.

PROGRAMMATION NUTRITIONNELLE DU METABOLISME HEPATIQUE CHEZ LE CANARD MULARD : DONNEES ZOOTECHNIQUES

Bodin Loys[1], Sécula Aurélie[1], Chapuis Hervé[1], Cornuez Alexis[2], Bernadet Marie-Dominique[2], Cobo Emilie[1], Barrieu Josette[2], Martin Xavier[2], Manse Hélène[1], Lessire Michel[3], Mercerand Frédéric[4], Le Bourhis Maria-Céleste[4], Brun Jean-Michel[1], Bonnefont Cécile MD[1] et Morisson Mireille[1]

[1]GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31326 CASTANET TOLOSAN
[2]INRAE, 1076 route de Haut-Mauco, 40280 BENQUET
[3]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY
[4]INRAE, PEAT, Unité Expérimentale Avicole, 37380 NOUZILLY
mireille.morisson@inrae.fr

RÉSUMÉ

Les effets de la nutrition maternelle sur les phénotypes des descendants sont activement étudiés chez les animaux d'élevage. Chez le canard mulard, nous avons étudié les effets d'un régime alimentaire maternel restreint en méthionine (0,25% *versus* 0,40%) sur le métabolisme hépatique des descendants et sur leurs performances zootechniques en lien avec la production de foie gras. Un lot de 60 canes communes a été divisé en 2 groupes à l'âge de 10 semaines. La restriction a été appliquée chez 30 canes pendant les périodes de croissance et de ponte, de 10 à 51 semaines d'âge. Elle n'a affecté ni la courbe de croissance, ni la courbe de ponte, mais elle a diminué le poids de l'œuf ($P < 0,001$), le poids du blanc d'œuf ($P < 0,001$) et le poids des canetons à l'éclosion ($P < 0,001$). Elle a aussi affecté leur métabolisme énergétique car leurs taux plasmatiques de glucose ($P = 0,03$) et de triglycérides ($P = 0,01$) ont été augmentés alors que celui des acides gras libres a été diminué ($P = 0,01$) tout comme l'activité de l'alanine aminotransférase ($P = 0,002$). Les canetons ont ensuite reçu une alimentation classique lors des phases d'élevage et de gavage. A 12 semaines d'âge, avant la mise en gavage, les mulards du groupe issu de canes restreintes étaient plus maigres, avec un taux de lipides hépatiques ($P = 0,005$) et un poids de gras abdominal ($P < 0,04$) plus faibles. Puis, après 12 jours de gavage, l'état d'engraissement des mulards est resté altéré puisque le poids du foie gras était diminué de plus de 10 % chez les descendants des canes restreintes en méthionine (494,5 g versus 545,9 g ; $P = 0,003$). En conclusion, la restriction maternelle en méthionine appliquée lors de la production des gamètes, puis la moindre disponibilité en nutriments lors du développement embryonnaire dans l'œuf, ont conduit à une programmation nutritionnelle dont les effets sur le métabolisme hépatique des descendants perdurent au-delà de la période de gavage.

ABSTRACT

Nutritional programming of hepatic metabolism in mule duck: zootechnical data

The effects of maternal nutrition on offspring phenotypes have already been largely documented in farm animals. In the present study, we investigated the effects of a reduced level of dietary Methionine (0.25% *versus* 0.40%) on laying performances of common laying female ducks and on the hepatic metabolism and zootechnical performances of their mule offspring in relation to "foie gras" production. A batch of 60 common female ducks was divided into 2 groups at 10 weeks of age. The restriction applied to one group during the growing and laying periods, from 10 to 51 weeks of age, did not affect the growth curve nor the laying curve, but it did decrease egg weight ($P < 0.001$), albumen weight ($P < 0.001$) and duckling body weight at hatch ($P < 0.001$). It also affected the duckling energy metabolism as their plasma glucose ($P = 0.03$) and triglyceride ($P = 0.01$) levels were increased while free fatty acid level was decreased ($P = 0.01$) as was alanine aminotransferase activity ($P = 0.002$). The ducklings were then fed conventional diets during the rearing and force-feeding phases. At 12 weeks of age, prior to force-feeding, ducklings from the restricted group were leaner, with lower liver lipids ($P = 0.005$) and abdominal fat weight ($P < 0.04$). Then, after force-feeding, fatty liver weight was decreased by more than 10% (494,5 g *versus* 545,9 g; $P = 0.003$). In conclusion, maternal methionine restriction applied during gamete production, followed by reduced nutrient availability during embryonic development in the egg, led to a nutritional programming whose effects on the liver metabolism of the offspring lasted beyond the force-feeding period.

INTRODUCTION

Les effets de la nutrition maternelle sur les phénotypes des descendants sont bien documentés chez les animaux d'élevage (Chavatte-Palmer et al., 2016; Khanal and Nielsen, 2017; Sinclair et al., 2016). Ainsi, il est montré que la disponibilité des nutriments pendant le développement embryonnaire interfère avec les principales voies métaboliques et façonne les phénotypes de l'individu sur du long terme, ce phénomène est connu sous le terme de programmation nutritionnelle.
Chez la volaille, le régime alimentaire maternel qui détermine l'apport de nutriments dans l'œuf, impacte également le phénotype des descendants (Jha et al., 2019; Métayer Coustard et al., 2019; Morisson et al., 2017). Parmi les nutriments indispensables, la méthionine (Met) joue un rôle clé et est le premier acide aminé limitant dans un régime typique maïs-soja (Bunchasak, 2009). Ainsi, chez la cane pondeuse, l'apport recommandé en Met varie entre 0,40% et 0,45% (Fouad et al., 2016, 2018; Ruan et al., 2018). En outre, la Met participe au métabolisme du monocarbone et est, de ce fait, considéré comme un donneur de méthyle. Or la disponibilité des donneurs de méthyle lors du développement embryonnaire impacte le métabolisme hépatique des glucides et des lipides. Par exemple, il a été montré que l'injection in ovo de bétaïne affecte le métabolisme hépatique du cholestérol chez les poussins nouvellement éclos (Hu et al., 2015) et les protège ensuite de la stéatose hépatique induite par un régime riche en graisses (Hu et al., 2017). De plus, lorsque la bétaïne est administrée aux poules au lieu d'être injectée dans les œufs, elle modifie le niveau d'expression de gènes d'intérêt dans le foie des poussins (Hou et al., 2018).
Dans ce contexte, nous avons cherché à savoir si une teneur plus faible en Met dans l'alimentation des canes reproductrices pouvait modifier leurs performances de ponte et les performances de production de foie gras de leurs descendants mulards.

1. MATERIELS ET METHODES

Le protocole expérimental a reçu l'autorisation ministérielle (APAFIS#1847-2015092213418825v2) et a été réalisé conformément aux directives en vigueur (2010/63/UE). L'expérimentation a été menée à l'UEPFG (accréditation B40-037-1).

1.1. Caractères mesurés chez les canes

Un lot de 60 canes communes de la lignée expérimentale I444 a été divisé en deux groupes à l'âge de 10 semaines. Ensuite, et jusqu'à la fin de l'expérimentation à 51 semaines, le groupe contrôle (groupe C) a reçu un aliment dosé à 0,40 % de Met alors que le groupe restreint (groupe R) a reçu un aliment dosé à 0,25 %. L'aliment contrôle (C) a été obtenu en ajoutant de la DL-méthionine pure à l'aliment R pour atteindre une concentration de 0,40%. Ainsi, seul l'apport en Met différait entre les deux types d'aliment. Le poids des canes a été mesuré à l'âge de 3, 6, 9, 16 et 51 semaines et les caractères de ponte ont été relevés dès l'entrée en ponte et jusqu'à 51 semaines. Les poids des œufs, des jaunes et du blanc d'œuf, ont été mesurés pour 8 œufs de 14 femelles de chaque régime, entre 30 et 34 semaines. La matière sèche du jaune d'œuf et du blanc a été mesurée pour 5 œufs de 9 et 10 femelles des groupes C et R respectivement. La procréation des mulards a été réalisée par 2 inséminations artificielles par semaine entre 34 et 36 semaines d'âge, avec le sperme de mâles Barbarie de la lignée expérimentale INRA66, nourris avec des aliments commerciaux. L'incubation de 312 œufs pour le groupe C et de 317 œufs pour le groupe R a permis d'évaluer les taux de fertilité et d'éclosion.

1.2 Caractères mesurés chez les mulards

A l'éclosion, les canetons ont été pesés et sexés. Puis, dans chacun des groupes C et R, 15 canetons des 2 sexes ont été sacrifiés pour mesurer le poids du foie et les taux plasmatiques de glucose, d'acides gras libres (AGL) et de triglycérides (TG) ainsi que les activités plasmatiques de la phosphatase alcaline (ALP), de l'alanine transaminase (ALT) et de l'aspartate aminotransférase (AST). Ces dosages ont été réalisés par la plateforme ANEXPLO (Toulouse, France).
Des animaux des 2 sexes, 184 pour le groupe C et 186 pour le groupe R, ont ensuite été élevés et préparés au gavage de façon conventionnelle et nourris avec des aliments commerciaux. A 12 semaines, avant l'entrée en gavage, les animaux ont été pesés et leur plasma prélevé. Pour chacun des groupes C et R, 15 individus des 2 sexes ont été sacrifiés et plusieurs mesures ont été effectuées sur la carcasse dont le poids du gras abdominal, le poids du foie et ses teneurs en lipides et matière sèche. Les dosages plasmatiques ont également été réalisés. Les autres animaux ont été gavés pendant 25 repas puis pesés et abattus. Plusieurs mesures ont été effectuées sur la carcasse, dont le poids du foie gras, sa teneur en lipides et son taux de fonte. Les dosages plasmatiques ont également été réalisés.

1.3 Analyses statistiques

Tous les caractères ont été analysés avec des modèles linéaires mixtes (logiciel ASReml ; (Gilmour et al., 2015)). Pour la croissance des canes, les effets fixes du modèle étaient le régime alimentaire, le lot de naissance et l'interaction régime-lot, tandis que la valeur génétique additive de la cane constituait, avec la résiduelle, les effets aléatoires. Pour les caractéristiques de production d'œufs, nous avons ajouté un environnement permanent (aléatoire) lié à la cane ainsi que l'âge au premier œuf et l'interaction entre l'âge au premier œuf et le régime alimentaire sous la forme de covariables. Les caractères de fertilité ont été considérés comme des caractères

binaires (fécondé ou non ; vivant ou mort au mirage ; éclosion ou non ; etc.) et traités avec un modèle à seuil qui inclut les mêmes effets que pour les caractères de production d'œufs complétés par un effet mâle (père des canetons potentiels), ajouté au modèle comme effet fixe. Pour les caractéristiques des mulards, l'effet génétique aléatoire était celui du mulard et non de sa mère et l'effet du sexe et l'interaction sexe/alimentation ont été ajoutés au modèle. En raison de l'asymétrie de leur distribution, certaines variables (paramètres plasmatiques tels que les activités enzymatiques ou les concentrations en cholestérol et triglycérides, …) ont subi une transformation logarithmique avant l'analyse.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Impacts de la carence alimentaire en méthionine sur les performances de ponte et les caractéristiques des œufs

Ces données ont déjà été publiées (Bodin et al., 2019). Brièvement, nous avons montré que les courbes de croissance et de ponte n'étaient pas affectées par la carence en Met dans le groupe R comparativement au groupe C, ce qui tend à montrer que les deux groupes de canes étaient comparables lors de la production des descendants mulards et que la diminution de 37,5% de l'apport en méthionine n'a pas affecté la santé des canes du groupe R. En revanche, la carence alimentaire a engendré une diminution du poids des œufs, du poids du blanc et du taux de matière sèche du blanc (Tableau 1). Le développement embryonnaire des canetons du groupe R s'est donc fait dans un environnement nutritionnel appauvri comparativement à celui des canetons du groupe C.

2.2. Impacts de la carence alimentaire maternelle sur les canetons nouvellement éclos

Ces données ont déjà été publiées (Bodin et al., 2019). Le poids à l'éclosion était significativement réduit chez les canetons du groupe R issus d'œufs de poids plus faible ($P < 0,001$). Ceci est en accord avec des études qui ont rapporté un poids plus faible à l'éclosion pour les poussins issus d'œufs plus petits, pondus par des poules nourries avec des aliments à faible teneur en protéines (Lesuisse et al., 2017; Rao et al., 2009) ou bien pour les poussins soumis à une carence protéique embryonnaire par retrait partiel de blanc d'œuf (Everaert et al., 2013; Willems et al., 2013). Chez les canetons du groupe R, les niveaux plasmatiques de glucose et de triglycérides étaient significativement plus élevés ($P = 0,03$ et $P = 0,01$ respectivement) tandis que celui des acides gras libres était significativement plus faible ($P = 0,01$) ainsi que l'activité de l'ALT ($P = 0,002$), utilisée comme indicateur des lésions hépatiques chez le canard (Ming et al., 2017) (Tableau 1). Ainsi, les modifications des paramètres plasmatiques suggèrent un impact de la carence maternelle en Met sur le métabolisme hépatique des canetons mulards à l'éclosion.

2.3. Impacts de la carence alimentaire maternelle sur les mulards prêts à gaver et les mulards gavés

Les canetons ont été élevés et préparés au gavage de façon conventionnelle. A 12 semaines, avant leur mise en gavage, plusieurs paramètres ont été mesurés et sont rapportés dans le Tableau 1. Le poids vif et le poids du foie ne différaient pas entre les deux groupes. En revanche, le taux de lipides et de matière sèche du foie ainsi que le poids abdominal étaient significativement diminués chez les animaux du groupe R ($P = 0,005$, $P = 0,04$ et $P = 0,04$ respectivement), montrant ainsi un plus faible engraissement corporel. Pour autant, nous n'avons pas repéré de modifications parmi les paramètres plasmatiques étudiés.

Après gavage (Tableau 1), le poids vif est légèrement plus faible chez les mulards du groupe R ($P = 0,04$) mais la principale différence concerne le poids du foie gras qui est significativement réduit ($P = 0,003$), avec une diminution de près de 10%, passant de 545,9 g en moyenne chez les mulards du groupe contrôle à 494,5 g chez ceux du groupe dont les mères ont été carencées. Au niveau plasmatique, les activités des deux transaminases, ALT et AST, sont diminuées ($P = 0,015$ et $P= 0,01$ respectivement), ce qui est cohérent avec une stéatose moins développée.

CONCLUSION

Ce modèle aviaire montre l'impact de l'alimentation des reproductrices sur l'élaboration des phénotypes à long terme, influençant les performances de production. Il est à souligner que dans ce modèle, la seule réduction de 37,5% de l'apport en méthionine chez la cane a suffi à impacter de façon pérenne le métabolisme hépatique du mulard et que cette programmation métabolique, installée lors du développement embryonnaire, est suffisamment robuste pour perdurer malgré la période de gavage de 12 jours.

De nombreux aspects de cette programmation sont à explorer pour en comprendre les mécanismes. Nous avons déjà repéré 55 transcrits différentiels dans le foie des canetons ce qui nous permet de poser l'hypothèse d'une modulation précoce de voies métaboliques (voir l'article de Sécula et al. lors de ces JRA & JRPFG 2022) mais d'autres études pourraient être entreprises. Ainsi l'analyse fine de la composition de l'œuf (nutriments, hormones, …) apporterait une meilleure connaissance des modifications de l'environnement précoce subi par l'embryon. D'autre part, l'étude de marques épigénétiques différentielles (telle que la méthylation de l'ADN), aux trois stades étudiés, permettrait d'identifier à la fois celles potentiellement impliquées dans la modulation précoce de voies métaboliques (éclosion) et celles qui perdurent sur le long terme (avant et après gavage).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bodin L. et al. 2019. Poult Sci 98, 5590–5600.
Bunchasak C. 2009. Role of Dietary Methionine in Poultry Production. J. Poult. Sci, 46 169–179.
Chavatte-Palmer P., Tarrade A., and Rousseau-Ralliard D. 2016. Int J Environ Res Public Health 13.
Everaert N. et al., 2013. Br J Nutr 110, 265–274.
Fouad A.M. et al., 2016. Br Poult Sci 57, 818–823.
Fouad A.M. et al., 2018. J Anim Sci Biotechnol 9, 1.
Gilmour A. et al., 2015. VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.
Hou Z. et al., 2018. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 218, 30–36.
Hu Y. et al., 2015. PLoS One 10, e0122643.
Hu Y. et al., 2017. Sci Rep 7, 40251.
Jha R. et al., 2019. Front Vet Sci 6, 82.
Khanal P., and Nielsen, M.O. 2017. J Anim Sci Biotechnol 8, 75.
Lesuisse J. et al., 2017. Poult Sci 96, 3949–3959.
Métayer Coustard S. et al., 2019. INRA Prod. Anim. 32, 417e–430e.
Ming K. et al. 2017. Int J Biol Macromol 102, 813–821.
Morisson M. et al., 2017. In Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics, Springer International Publishing.
Rao K. et al., 2009. Br J Nutr 102, 848–857.
Ruan D. et al., 2018. Br J Nutr 119, 121–130.
Sinclair K.D. et al. 2016. Reprod Fertil Dev.
Willems E. et al., 2013. Poult Sci 92, 1905–1915.

Tableau 1 : Caractères de reproduction des canes des groupes restreint (groupe R) et contrôle (groupe C) et effets de la carence maternelle en méthionine sur les caractères des mulards. L'effet du sexe du caneton et l'interaction (alimentation maternelle x sexe du caneton) sont également précisés.

	Aliment						
	Groupe R		Groupe C				
	n	lsmeans ± SE	n	lsmeans ± SE	$P_{aliment}$	P_{sexe}	$P_{Interaction}$
CANES							
Total d'œufs pondus	28	165,0 ± 21	26	179,0 ± 21	NS		
Poids œuf (g)	407	64,3 ± 2,0	393	69,6 ± 2,1	**<0,001**		
Poids jaune (g)	90	20,5 ± 0,5	81	21,4 ± 0,5	0,09		
Poids blanc (g)	90	32,6 ± 0,9	81	37,0 ± 0,9	**<0,001**		
Matière sèche blanc (%)	54	11,7 ± 0,2	45	12,4 ± 0,2	**0,01**		
Matière sèche jaune (%)	54	57,2 ± 1,0	45	55,4 ± 1,4	NS		
CANETONS A L'ECLOSION							
Poids vif (g)	180	33,0 ± 0,9	190	35,2 ± 0,9	**<0,001**	NS	NS
Poids foie (g)	28	1,51 ± 0,08	21	1,40 ± 0,11	NS	0,001	NS
Lipides foie (%)	28	17,23 ± 1,43	19	17,67 ± 1,44	NS	NS	NS
Plasma Glucose (mMol/L)	23	16,39 ± 1,88	26	10,63 ± 2,38	**0,03**	NS	NS
Plasma AGL (mMol/L)	28	0,27 ± 0,05	27	0,55 ± 0,05	**0,01**	0,07	NS
Log Plasma TG	27	0,55 ± 0,19	27	-0,09 ± 0,21	**0,01**	0,01	NS
Log Plasma ALP	28	5,36 ± 0,09	24	5,62 ± 0,10	0,07	<0,001	NS
Log Plasma ALT	28	2,90 ± 0,09	23	3,32 ± 0,09	**0,002**	0,01	NS
MULARDS PRETS A GAVER							
Poids vif (g)	139	3226 ± 89	148	3344 ± 89	NS	<0,001	NS
Poids foie (g)	30	69 ± 3	28	66 ± 3	NS	NS	NS
Lipides foie (%)	30	3,99 ± 0,14	25	4,35 ± 0,14	**0,005**	<0,001	NS
Matière sèche foie (%)	30	27,2 ± 0,2	27	27,7 ± 0,2	**0,04**	NS	0,10
Poids gras abdominal (g)	30	28 ± 4	28	34 ± 4	**0,04**	<0,001	NS
Poids muscle filet (g)	27	44,8 ± 1,5	27	48,1 ± 1,4	0,08	NS	0,06
MULARDS GAVES							
Poids vif (g)	92	5078 (±65)	93	5182 (±65)	**0,04**	<0,001	NS
Poids saigné (g)	92	4395 (±53)	92	4454 (±53)	NS	<0,001	NS
Poids peau du magret (g)	91	117,6 (±2,1)	93	121,8 (±2,1)	NS	<0,001	NS
Poids gras abdominal (g)	92	149,9 (±3,3)	93	151,0 (±3,1)	NS	0,06	NS
Poids foie chaud (g)	92	494,5 (±22,0)	93	545,9 (±21,7)	**0,003**	0,07	NS
Taux de fonte (%)	92	31,3 (±3,1)	92	34,9 (±3,1)	NS	NS	NS
Lipides du foie (%)	78	55,6 (±0,6)	74	56,2 (±0,6)	NS	NS	NS
Log Plasma ALT	87	1,46 (±0,02)	88	1,51 (±0,02)	**0,015**	NS	NS
Log Plasma AST	89	1,25 (±0,04)	89	1,34 (±0,04)	**0,01**	NS	NS

SESSION

DURABILITE – ENVIRONNEMENT

SESSION

DURABILITE – ENVIRONNEMENT

Posters

PERFORMANCES ECONOMIQUES, SOCIALES, ENVIRONNEMENTALES ET TERRITORIALES DE LA FILIERE IGP « VOLAILLES DE L'ORLEANAIS »

Méda Bertrand[1], Ferrand Marion[1], Duclos Michel[1]

[1]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY, France

bertrand.meda@inrae.fr

RÉSUMÉ

Dans un contexte global où l'élevage est l'objet d'attentes sociétales fortes, la filière Label Rouge « Volailles de l'Orléanais » s'interroge sur sa capacité à répondre aux multiples enjeux de la durabilité. Elle bénéficie en outre d'une Indication Géographique Protégée (IGP), la conduisant aussi à s'interroger sur ses liens avec son territoire. Ainsi, afin de réaliser un état des lieux de la filière et proposer des pistes d'amélioration, une grille d'évaluation a été développée puis un diagnostic réalisé. Quatre dimensions ont été considérées (économie, social, environnement et territoire) et déclinées en objectifs puis en critères, ayant tous le même poids et mesurés par des indicateurs concernant toute la filière ou seulement certains maillons. Les valeurs des indicateurs ont ensuite été converties en scores avant d'être agrégées à l'échelle du critère pour proposer une représentation synthétique des résultats. Afin de réaliser un état des lieux et proposer des pistes d'amélioration, une enquête a ensuite été menée auprès des opérateurs de la filière (fabricants d'aliments, couvoirs, éleveurs, organisations de production, abattoirs et organisme de défense et de gestion). Sur le plan économique, la filière présente de bonnes performances malgré la forte concurrence d'autres IGP voisines. Sur le plan social, elle apparait bien organisée en interne, mais peut encore progresser pour mieux communiquer et répondre aux nouvelles attentes sociétales. Par ailleurs, elle pourrait intégrer davantage les questions environnementales dans ses cahiers de charges. Enfin, sur le plan territorial, il apparait que sa taille modeste lui confère un impact modéré et qu'elle souffre d'un déficit de notoriété dans la région. Ainsi, cette première évaluation devrait permettre aux opérateurs de cette filière de réfléchir aux évolutions à mettre en place, en particulier dans le cadre du renouvellement de leur IGP.

ABSTRACT

Economic, social, environmental, and territorial performances of "Volailles de l'Orléanais" geographical protected value chain

The livestock sector is currently facing many societal expectations. In this context, the Label Rouge "Volailles de l'Orléanais" value chain is questioning its capacity to tackle these expectations and multiple sustainability issues. This value chain is also labelled with Protected Geographical Indication (PGI), which leads operators to question their links with the territory. Thus, in order to assess the value chain and to propose improvement options, an assessment grid was developed and a diagnosis carried out. Four dimensions were considered (economic, social, environmental and territorial) and declined into objectives and criteria, which all had the same weight. Criteria were measured by indicators concerning the entire value chain sector or only certain operators. The values of indicators were then converted into scores before being aggregated at the criterion level to propose a synthetic representation of results. In order to carry out an assessment and to propose avenues of improvement, a survey was then carried out among operators of the value chain (feed producers, hatcheries, farmers, production organizations, slaughterhouses, and the "defense and management" organization). Economically, the sector is performing well despite strong competition from other surrounding PGIs. On the social level, it appears to be well organized internally, but can still progress in terms of communication and integration of new societal expectations. Besides, environmental issues could be better integrated into the Label Rouge specifications. Finally, on the territorial level, it appears that small size of the value chain has a moderate impact on a regional scale. It also appears that the PGI suffers from a lack of recognition in the region. This first assessment should allow the operators to think about the changes to be implemented, in particular in the perspective of the renewal of their PGI.

INTRODUCTION

L'agriculture en région Centre-Val de Loire se caractérise avant tout par la production de grandes cultures (Agreste, 2020). Ainsi, en 2019, les productions animales ne représentaient (en valeur) qu'environ 20% de la production agricole régionale (Agreste, 2020), avec certaines productions animales majoritairement tournées vers la production de produits à forte valeur ajoutée (ex. cinq Appellations d'Origine Protégée pour les fromages de chèvres). En volaille de chair, on estime qu'environ un tiers de la production est placée sous signe de qualité (Chambre d'Agriculture Centre-Val de Loire, 2021), avec notamment huit Indications Géographiques Protégées (IGP) présentes sur le territoire régional.

Toutefois, malgré une forte demande des consommateurs pour ces produits sous signes officiels de qualité, les filières avicoles sont confrontées à de multiples enjeux de durabilité (Méda *et al.*, 2021), d'attentes sociétales fortes (Dockes *et al.*, 2017) et de questionnement autour de leur multifonctionnalité (Chiron *et al.*, 2019). Aussi, des outils de diagnostic et d'évaluation doivent être proposés aux opérateurs des filières pour les aider à progresser et à mieux intégrer ces nouvelles dimensions dans leurs activités et leurs cahiers des charges.

Ainsi, l'objectif de cette étude était de développer une méthode pour évaluer la multiperformance d'une filière avicole sous signe(s) officiel(s) de qualité, puis d'appliquer cette méthode à la filière Label Rouge IGP « Volailles de l'Orléanais » qui regroupe environ 120 éleveurs sur trois départements de la région Centre-Val de Loire (28, 41, 45 ; Figure 1), et est actuellement engagée dans une phase de diagnostic, en lien avec le renouvellement de son IGP.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Cadre conceptuel : Choix des dimensions, objectifs et critères

La grille d'évaluation développée dans cette étude considère l'ensemble des maillons concernés par les cahiers des charges « Volailles de l'Orléanais », à savoir : les couvoirs, les fabricants d'aliments (FAB), les éleveurs, les organisations de production et les abattoirs, ainsi que l'organisme de défense et de gestion (ODG), le Syndicat des Volailles de l'Orléanais (SVO) (Figure 1).

La grille a été divisée en 4 dimensions : économique, sociale, environnementale et territoriale, comme dans l'approche proposée par l'INAO (Villegas, 2018 ; Peugeot, 2019). Ces dimensions ont ensuite été déclinées en objectifs puis en critères, comme dans la méthode OVALI® (Méda *et al.*, 2021). Ces objectifs/critères ont été présélectionnés par les auteurs puis discutés/validés au cours de plusieurs réunions avec l'ITAVI et l'INAO. Les objectifs/critères retenus s'inspirent ainsi des grilles développées par l'ITAVI et INRAE (OVALI® : Méda *et al.*, 2021 ; BOUQUET : Chiron *et al.*, 2021) et par l'INAO (Villegas, 2018 ; Peugeot, 2019).

1.2. Cadre méthodologique : Choix des indicateurs

Pour « mesurer » chaque critère, un ou plusieurs indicateurs ont été choisis, associés à une question devant être posée lors des enquêtes auprès des opérateurs de la filière. Certains indicateurs étaient spécifiques de certains maillons (ex. « Valorisation des effluents sur l'exploitation ») ou communs à tous les maillons (ex. « Animation de la filière »). Ils pouvaient être quantitatif (ex. « Part de la production déclassée ou invendue ») ou qualitatif (ex. « Echelle de distribution des produits »). Pour faciliter la collecte des réponses (durée d'entretien, facilité d'accès aux données pour les opérateurs), environ un tiers des indicateurs ont été évalués à l'aide d'échelles numériques sur lesquelles les opérateurs devaient se positionner (ex. *« Sur une échelle de 1 à 10, comment jugeriez-vous… »*).

1.3. Cadre méthodologique : Transformation en score et représentation des résultats

Pour chaque critère, un score maximal de 2 points a été défini. Puis, pour chaque indicateur, des règles de conversion ont été établies pour attribuer 0, 1 ou 2 points en fonction des réponses, sachant que pour certains indicateurs seules deux valeurs étaient possibles (0 et 2 ou 1 et 2). Le score maximal de 2 correspond à une situation « favorable » ou « optimale » au regard du critère concerné. A l'inverse, le score 0 qualifie une situation « préoccupante » ou « devant être améliorée », tandis que le score 1 traduit une situation intermédiaire.

Les critères étant mesurés par 2 à 4 indicateurs, un score moyen était ensuite calculé à partir des scores de chaque indicateur, sans pondération (*i.e.* même poids pour tous les indicateurs de la grille).

Enfin, pour présenter de façon synthétique les résultats à l'échelle des critères, un mode de représentation graphique, inspiré de celui de la grille OVALI® (Méda *et al.*, 2021), a été retenu. Ainsi, pour chaque critère, le score obtenu (S) a été exprimé en pourcentage du score maximal (2) puis représenté par un code couleur (Tableau 1) : $S \leq 30\%$; $30\% < S < 50\%$; $50\% \leq S < 65\%$; $65\% \leq S < 80\%$; $S \geq 80\%$.

1.4. Enquêtes auprès des opérateurs et évaluation de la filière IGP « Volailles de l'Orléanais »

Afin de réaliser l'évaluation de la filière « Volailles de l'Orléanais, une enquête a été réalisée durant le premier semestre 2021 auprès de 26 opérateurs de la filière, par internet ou par téléphone (uniquement pour les éleveurs et le représentant SVO/CAFO).

Dix-sept éleveurs, tous situés dans le cœur de la zone IGP (départements 28, 41 et 45 ; Figure 1), ont été choisis pour constituer un échantillon varié en terme d'âge et d'ancienneté dans la filière. En plus des éleveurs, 7 opérateurs de l'amont et de l'aval ont été consultés : 3 fabricants d'aliments, 2 couvoirs, 2

abattoirs. Enfin, une même personne travaillant à mi-temps pour le SVO et pour la Coopérative Agricole des Fermiers de l'Orléanais (CAFO) a été consultée, pour recueillir des réponses pour les maillons « Organisation de production » et « Organisme de Défense et de Gestion ». Pour chaque indicateur, un score moyen par maillon a d'abord été calculé, en tenant éventuellement compte du poids des répondants dans la filière (uniquement pour les FAB et les abattoirs), puis le score final de l'indicateur était calculé comme la moyenne des scores moyens.
Enfin, à l'aide des retours des répondants et d'échanges complémentaire avec le représentant du SVO, une analyse des forces, faiblesses, opportunités et menaces (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats* ; SWOT) a été également été réalisée.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Grille et méthode d'évaluation

La grille d'évaluation est constituée de 12 objectifs, eux-mêmes déclinés en 31 critères (Tableau 1) et mesurés par 80 indicateurs (non présentés). Toutefois, si la grille a été développée en consultants des experts (ITAVI, INAO), elle n'a cependant pas été co-construite à l'aide d'une démarche participative mobilisant les parties prenantes de la filière, comme d'autres méthodes décrites dans la littérature et appliquées aux productions avicoles (Pottiez *et al.*, 2012 ; Litt *et al.*, 2014 ; Méda *et al.*, 2021). Ainsi, en considérant (ou en excluant) certain(e)s enjeux ou problématiques, et en supposant un poids égal entre tous les critères, il est possible que la vision présentée dans la grille ne soit pas « représentative » de celles des parties prenantes (société civile, opérateurs privés…) qui peuvent attacher plus d'importance à certains enjeux par rapport à d'autres (*i.e.* vision non partagée). Ceci pourrait donc potentiellement limiter l'acceptation et/ou l'appropriation des résultats par certaines parties prenantes (Méda *et al.*, 2021).
De plus, un grand nombre d'indicateurs (≈30%) est basé sur des échelles numériques demandant aux opérateurs de se positionner. Une telle approche introduit *de facto* une certaine subjectivité dans les réponses, et peut donc rendre davantage compte d'un état « perçu » par les répondants plutôt que d'un état « réel » de la filière. Ce type d'indicateurs permet néanmoins de « mesurer » plus facilement/rapidement certains critères qu'avec d'autres types d'indicateurs pouvant nécessiter du temps de collecte de données. Pour faire évoluer la méthode, il conviendrait donc de disposer d'indicateurs plus précis reposant sur des données technico-économiques issues directement des opérateurs de la filière ou des élevages.

2.2. Évaluation multicritère et analyse SWOT

Les performances économiques de la filière sont globalement bonnes (5 critères sur 6 avec un score ≥ 65% du score maximal ; Tableau 1). Ces bonnes performances peuvent notamment s'expliquer par des volumes produits à la hausse depuis quelques années, sans doute en lien avec la proximité du bassin parisien qui représente une part importante des débouchés de la filière (en particulier via l'abattoir Ronsard Ile de France, localisé à moins de 100 km de Paris). Enfin, le vieillissement des éleveurs et la difficulté à en « recruter » de nouveaux constituent également une menace pour cette petite filière (Tableau 2).
Sur les aspects sociaux, le fonctionnement de la filière est jugé efficace (Tableaux 1 et 2), avec des opérateurs estimant qu'ils sont bien intégrés à la filière et aux réflexions. Ils jugent ainsi que la filière est dynamique mais estiment paradoxalement que des efforts peuvent encore être fait pour davantage prendre en compte les attentes sociétales dans les cahiers des charges. Par ailleurs, au sein de la filière, les opérateurs évaluent positivement les conditions de travail et de vie. Enfin, il apparait que la communication de la filière auprès de la société et des consommateurs est limitée (ex. absence de site internet pour la promotion de l'IGP) et qu'*in fine* la notoriété de l'IGP ne dépasse pas le bassin de production et les régions voisines (bassin parisien). Cette faible communication compromet un accès éventuel aux marchés servis par d'autres filières IGP voisines, plus conséquentes en termes de volumes et bénéficiant d'une notoriété nationale (ex. IGP « Volailles du Maine » ; Tableau 2).
Sur le plan environnemental, il apparait que la filière peut (doit ?) progresser (Tableau 1). Ainsi, peu de contraintes environnementales sont aujourd'hui incluses dans les cahiers des charges de la filière, notamment en terme d'aménagements et/ou gestion agroécologique des parcours, ou d'atténuation du changement climatique. L'inclusion dans le cahier des charges d'un lien au territoire pour l'alimentation des animaux (céréales locales ; Tableau 2) pourrait à ce titre représenter une opportunité pour inscrire la filière dans une approche de circularité sur son territoire. En outre, il convient de noter que la majorité des indicateurs retenus dans la méthode d'évaluation sont soit subjectifs (*i.e.* positionnement sur une échelle de 1 à 10) soit des indicateurs de moyens/pratiques (plus simples/rapides et moins chers à mesurer) plutôt que des indicateurs de résultats (ex. implantation ou non d'espèces mellifères plutôt que comptage des espèces pollinisatrices sur le parcours), ce qui peut induire une différence avec la situation « réelle ».
Enfin, sur le plan territorial, étant donné la petite taille de cette filière (moins de 130 élevages), son poids économique et « institutionnel » au sein de la région Centre-Val de Loire demeure limité (Tableau 1). De même, le lien entre les produits IGP issus de la filière et le territoire semble finalement assez mince (*i.e.* faible importance du patrimoine historique et/ou gastronomique). Ainsi, si le terme « orléanais » est explicite quant à l'origine des produits, la filière semble manquer d'arguments pour défendre la spécificité des volailles produites dans cette zone (cf. renouvellement de l'IGP). En particulier, la filière, ne

semble pas s'appuyer sur le statut de « grenier à blé » d'une partie de son territoire (sud du bassin parisien : Beauce, Gâtinais). Ce statut représente pourtant une opportunité pour renforcer le lien au territoire en communiquant sur l'utilisation de céréales locales pour nourrir les volailles (Tableau 2), avec un possible consentement à payer supérieur de la part des consommateurs (Profeta et Hamm, 2019). Enfin, le plébiscite des consommateurs pour des filières plus locales, récemment accentué par la crise sanitaire (Covid-19 ; Nemes *et al.*, 2021), constitue aussi une opportunité pour développer de nouveaux marchés.

CONCLUSION

Cette étude a permis d'évaluer la filière sous signes officiels de qualité « Volailles de l'Orléanais » au travers de sa multiperformance, grâce à une approche multicritère. Des résultats contrastés ont été constatés selon les dimensions considérées (économie, social, environnement et territoire) et des voies d'amélioration sont possibles. En particulier, dans un contexte où les IGP délivrées durant les années 90 doivent être renouvelées, le lien de la filière avec son territoire devrait être renforcé. Dans ce contexte, le cadre conceptuel proposé ici peut constituer un outil de discussion et de progrès pour initier une réflexion collective au sein de la filière.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par la région Centre-Val de Loire (projet VOLAILLES, 2018-2022). Les auteurs remercient Isabelle Bouvarel (ITAVI) ainsi que l'INAO pour les échanges constructifs lors du développement de la grille d'évaluation. Les auteurs remercient également l'ensemble des éleveurs et opérateurs ayant répondu aux enquêtes, en particulier Jean-Yves Limier (SVO/CAFO) pour son éclairage sur le fonctionnement de la filière.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agreste, 2020. Mémento 2020 – Centre Val de Loire, 32 p.
Chambre d'Agriculture Centre-Val de Loire, 2021. *https://centre-valdeloire.chambres-agriculture.fr/produire-innover/productions-animales/volailles/*. Consulté le 29/11/21.
Chiron G, Méda B, Pertusa M, Protino J, Lamothe L, Dupuy L, Gross H, Lavoyer S, Roinsard A, Guillet P, Fontanet J-M., Bouvarel I, 2019. 13èmes JRA-PFG, 339-343.
Dockes A-C., Delanoue E., Chouteau A., Philibert A., Philibert A., Magdelaine P., Roguet C., 2017. 12èmes JRA-PFG, 225-229.
Litt J., Coutelet G., Arroyo J., Bignon L., Laborde M., Theau-Clément M., Brachet M., Guy G., Drouilhet L., Dubois J-P., Grossiord B., Hérault F., Fortun-Lamothe L., 2014. Innov. Agro., (34), 241-258.
Méda B., Dusart L., Protino J., Lescoat P., Berri C., Magdelaine P., Bouvarel I. Sustainability, (13), 1329.
Nemes G., Chiffoleau Y., Zollet S., Collison M., Benedek, Z. Colantuono C., Dulsrud A., Fiore M., Holtkam C., Kim T-Y., Korzun M., Mesa-Manzano R., Reckinger R., Ruiz-Martìnez I., Smith K., Tamura N., Viteri M.L., Orbán E., 2021. Sus. Prod. Consum., (28), 591-599.
Pottiez E., Lescoat P., Bouvarel I., 2012. 10th IFSA Symposium, Aarhus, Denmark, 7 p.
Peugeot A., 2019. Mémoire de fin d'études, ESA Angers, 73 p.
Profeta A., Hamm U., 2019. Int. J. Food Sci. Tech., (54), 651-659.
Villegas M., 2018. Mémoire de fin d'études, ENSA Toulouse 75 p.

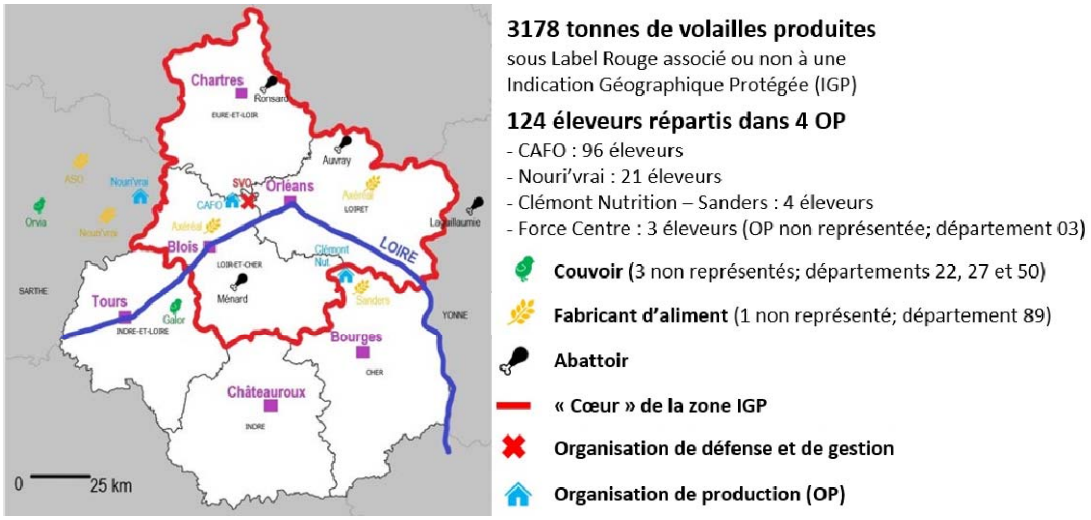


Figure 1. Aire géographique, répartition des opérateurs et chiffres clés de la filière Label Rouge sous Indication Géographique Protégée « Volailles de l'Orléanais ».

Tableau 1. Évaluation des dimensions économiques, sociales, environnementales et territoriales de la filière Label Rouge sous Indication Géographique Protégée « Volailles de l'Orléanais ». Pour chaque critère, le score obtenu est exprimé en pourcentage du score maximal du critère (2 points)[1].

Dimension	Objectif	Critère	Résultat
Economie	Maintien d'une rentabilité constante	Rentabilité	
		Volumes produits	
	Adaptation de la filière aux marchés	Réponses aux attentes des consommateurs	
		Compétitivité de la filière	
		Commercialisation des produits	
		Ouverture à l'innovation	
Social	Fonctionnement de la filière et adaptation aux attentes de la société	Intégration des opérateurs au sein de leur filière	
		Dynamisme au sein de la filière	
		Réponse aux nouveaux enjeux	
	Qualité de vie et développement humain	Temps et pénibilité de travail	
		Hygiène, sécurité et formation	
		Valorisation des métiers	
	Réponses aux attentes sociétales	Bien-être animal	
		Information sur l'origine du produit	
	Communication auprès de la société	Notoriété de la filière	
		Promotion de la filière	
Environnement	Biodiversité et connectivité des milieux	Gestion des surfaces productives	
		Aménagements agroécologiques	
		Biodiversité végétale et animale	
	Maîtrise des impacts environnementaux	Recyclage des nutriments	
		Changement climatique	
		Démarches environnementales volontaires	
	Circularité et économie des ressources	Bouclage des cycles de l'azote et du phosphore	
		Consommation d'eau et d'énergie	
Territoire	Contribution au dynamisme du territoire	Création d'emplois	
		Synergies territoriales	
	Intégration de la filière dans le territoire	Poids administratif	
		Visibilité et identité territoriale	
		Intégration dans le paysage rural	
	Intégration du produit sous SIQO dans son territoire	Patrimoine culturel et gastronomique	
		Emploi de ressources locales	

[1] **Score du critère** (% du score maximal) : score ≤ 30% ; 30% < score < 50% ; 50% ≤ score < 65% ; 65% ≤ score < 80% ; score ≥ 80%

Tableau 2. Forces, faiblesses, opportunités et menaces associées à la filière Label Rouge sous Indication Géographique Protégée « Volailles de l'Orléanais ».

	POSITIF	NÉGATIF
ORIGINE INTERNE	***Forces***	***Faiblesses***
	Filière globalement bien ancrée dans le territoire de l'Orléanais (opérateurs de l'amont et de l'aval) Bonne dynamique interne	Peu de communication à grande échelle (internet…) Faible lien au territoire (gastronomie, histoire…)
ORIGINE EXTERNE	***Opportunités***	***Menaces***
	Covid19 : rapprochement consommateurs - producteurs Matières premières (céréales) produites localement et pouvant être valorisées dans l'alimentation des animaux	Concurrence des IGP voisines (ex. « Volailles du Maine ») Dossier de renouvellement de l'IGP : lien au territoire ? Vieillissement / renouvellement des éleveurs

REFONTE METHODOLOGIQUE DU BILAN REEL SIMPLIFIE VOLAILLES

Yann Guyot[1], Vincent Blazy[1], Jean-Marie Fontanet[1]

[1]ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonière, 75009 Paris, France
guyot@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Connaitre avec précision l'excrétion des ateliers avicoles est aujourd'hui incontournable pour les éleveurs et l'administration. Cette préoccupation devient croissante pour les éleveurs qui doivent répondre à des obligations de résultats dans le cadre de la Directive IED, 2010/75/UE. Dès lors, il est nécessaire de disposer de données adaptées à l'atelier évalué afin que les indicateurs calculés soient au plus près de la réalité et rendent compte des progrès consentis. Cette étude présente la refonte méthodologique de l'outil du Bilan Réel Simplifié destiné aux productions avicoles qui permet aux éleveurs de calculer les flux d'excrétion de leurs ateliers. Basée sur un bilan de masse quotidien, la nouvelle méthodologie tient compte de l'évolution du plan d'alimentation tout au long d'un lot. Le calcul repose sur la génération a posteriori des cinétiques de croissance, d'ingestion et de mortalité d'un lot à partir des données zootechniques renseignées par l'utilisateur et de courbes de références. Ainsi, à l'aide des valeurs de rétentions corporelles, il est possible de calculer les cinétiques d'excrétion des différents éléments (N, P, K, Ca, Cu et Zn) et donc de faire un bilan total plus précis à l'échelle du lot. L'outil permet le calcul d'excrétion pour la majorité des productions de volailles de chair (tout venant et mixte) ainsi que pour les poules pondeuses. L'outil permettra aux éleveurs de mieux estimer les émissions et le lien au sol (en précisant le dimensionnement du plan d'épandage) de calculer les émissions réelles de son atelier et ainsi de faciliter la gestion de ses effluents, incluant le retour au sol et le dimensionnement du plan d'épandage. De plus, cette méthodologie pourra servir de base à la mise à jour des valeurs d'excrétions de référence pour l'ensemble de la production avicole française.

ABSTRACT

Methodological redesign of the poultry mass-balance excretion

Precisely knowing poultry farms excretion flows is nowadays inescapable for farmers and administrations. Farmers have to meet results obligations to tackle this growing concern. Henceforth, farm specific data are necessary to have indicators as close to reality as possible and take account of efforts made. This study introduces the methodological redesign of the poultry mass-balance excretion calculation tool that offers to farmers the possibility to evaluate their excretion flows. Based on daily mass balance computation, the new calculator considers the food strategy during the rearing period. Calculation is based on the generation of a posteriori growth, feed intake and mortality dynamics from users zootechnical data and references curves. Thus, with help of deposition values, excretion dynamics can be extracted for six different elements (N, P, K, Ca, Cu et Zn), and so a more accurate balance-sheet can be computed on the rearing span. This new tool can be used for the most of the poultry for meat productions as well as egg laying production. By giving to farmer the ability to better know his farm emissions, it will be possible to easier manage effluents. Moreover, this methodology could be used for updating reference tables of excretions values for the whole of poultry French production.

INTRODUCTION

Les valeurs d'excrétion des ateliers avicoles sont cruciales pour les éleveurs et leurs techniciens. La précision dans l'évaluation de ces données représente un enjeu à la fois environnemental, réglementaire et de recherche et développement. D'un point de vue environnemental, l'excrétion d'éléments tels que l'azote (N), le phosphore (P), ou encore le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) à des conséquences non négligeables. L'excès d'N ou de P peut entrainer des phénomènes d'eutrophisation, des concentrations importantes de Zn ou de Cu conduisent à l'écotoxicité terrestre. Enfin, la volatilisation de l'N sous forme d'ammoniac ou de protoxyde d'azote à des conséquences sur la qualité de l'air. Sur les aspects réglementaires, la révision en 2017 de la directive européenne sur les émissions industrielles (Directive IED, 2010/75/UE) a conditionné l'obtention des permis d'exploiter, pour des élevages dépassant les 40 000 emplacements (pondeuses, poulet de chair, dindes et canards), au respect de niveaux d'excrétion maximale en azote et en phosphore. Concernant les aspects recherche et développement, l'utilisation du bilan de masse offre un puissant moyen de vérification de résultats issus de campagne de mesures menées en élevage. Néanmoins, cette méthode ne permet pas de connaitre les quantités d'effluent produites ni leur teneur, l'excrétion correspondant au produit de ces deux grandeurs. Pour répondre à ces trois enjeux, un outil a été créé, le Bilan Réel Simplifié (BRS) qui fournit à partir de données issues du plan d'alimentation et des performances zootechniques de l'élevage, une estimation des éléments excrétés (Ponchant *et al*, 2017). Afin de disposer de résultats d'excrétion les plus précis, la présente étude propose une refonte méthodologique du BRS volaille précédemment développé.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Principe et productions concernées

Ce nouvel outil propose d'estimer les rejets non plus en réalisant un bilan de masse à l'échelle du lot, mais de la journée. Cette approche offre une vision de la dynamique d'excrétion tout en étant plus précise. Le calculateur repose sur la génération à posteriori des dynamiques de croissance, d'indice de consommation et de mortalité du lot sur la base de courbes de référence et de données zootechniques renseignées par l'utilisateur. La refonte concerne 22 productions avicoles. Les nutriments concernés sont l'N, le P, le calcium (Ca), le potassium (K), le Zn et le Cu.

1.2. Courbes de référence

Les courbes de référence ont été modélisées à l'aide de régression non linéaires sur la base de données sélectionneurs ou de données internes. Ainsi les dynamiques de croissance (courbe de poids vif (PV)) et d'ingestion (courbe d'indice de consommation (IC)) ont été obtenues à partir de données sélectionneurs de la souche le plus représentée pour une production donnée. Concernant la dynamique de mortalité cumulée, des données de plus de 230 lots de productions variées ont été utilisées afin de disposer de courbes de références de mortalité quotidienne.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Cette section présente un cas général de calcul d'excrétion en se plaçant dans le cas d'un élevage de poulet standard en claustration, ainsi qu'une description de cas spécifiques propres à la filière avicole.

2.1. Cas général

La mécanique de calcul de l'excrétion est décrite ci-dessous pas à pas en fonction de la donnée d'entrée (voir figure 2) :

1. L'espèce produite* : après sélection de l'espèce considérée dans le bilan, le calculateur sélectionne dans une base de données les courbes de références associées.
2. Les poids et âges à la mise en place et à l'abattage, l'IC technique, les nombres d'animaux mis en place et morts* : l'ensemble de ces données est utilisé pour ajuster les courbes de référence sélectionnées précédemment. A ce stade, le calculateur dispose de représentation *a posteriori* des dynamiques de PV, d'IC et de mortalité.
3. Il est donc possible d'obtenir les dynamiques de gain de poids quotidien, d'ingestion quotidienne, ainsi que le nombre d'animaux vivants chaque jour.
4. Le plan d'alimentation* (teneur en N, P, K, Ca, Cu et Zn de chaque aliment et les durées de distribution de chacun) : à l'aide des dynamiques précédemment calculées, il est possible de connaitre l'ingestion quotidienne de chaque élément. De même, la part fixée par les animaux est obtenue à partir de la courbe de gain de poids quotidien et la composition des carcasses (considérée comme constante au cours du lot) de la production sélectionnée (valeurs tables, ITAVI 2013). Par différence (ingéré - fixé), la dynamique d'excrétion quotidienne d'un animal peut être obtenue. Cette excrétion unitaire peut aisément être étendue à l'ensemble du lot car le nombre d'animaux vivants est connu à l'étape précédente.
5. La somme des résultats d'excrétion quotidienne du lot conduit à l'excrétion totale de celui-ci. La répétition de l'opération sur la totalité des lots de l'année conduit elle au bilan annuel de l'atelier de production.

6. Le nombre d'emplacements de l'atelier* : après addition des lots de l'année puis division par le nombre de place de l'atelier, la valeur de l'excrétion est obtenue, exprimée en kg/place/an

**Ces éléments sont saisis par l'opérateur*

Cette nouvelle méthode de calcul offre également, de par sa définition même, la possibilité d'inclure la part d'excrétion d'un lot à cheval sur deux années civiles.

2.2. Cas spécifique : poules pondeuses (œufs de consommation)

Pour les productions pondeuses, le dépôt de nutriments dans le compartiment œuf doit être pris en compte. L'autre spécificité de cette production est de n'inclure que des animaux à un stade physiologique avancé, rendant les modèles de croissance et d'ingestion précédemment décrit inapplicables. La croissance de ce type de production est donc modélisée par une autre équation et la mortalité et l'ingestion sont considérées comme constantes sur la totalité du lot. L'export de nutriment vers l'œuf est modélisé à partir d'une courbe de poids d'œuf quotidien elle-même issu d'un modèle de poids d'œufs cumulés.

2.3. Cas spécifique : productions sexées séparées

Les productions de volailles dites « sexées séparées » apportent une difficulté en plus au calcul de l'excrétion. En effet, les mâles séparés des femelles sont élevés plus longtemps. Cette conduite d'élevage entraine la méconnaissance de l'IC de chaque sexe puisque seule la consommation d'aliment de l'ensemble du lot est connue. La nouvelle méthode propose une estimation de l'IC des deux sexes à partir de l'IC commun (IC_{com}) et des deux âges à l'abattage. Le calcul repose sur l'hypothèse que l'IC commun (connu par l'éleveur) est égal à un IC tout venant (pondéré par le nombre relatif d'individu de chaque sexe) pris à un âge compris entre les deux âges à l'abattage (également pondéré) et est défini comme :

$$IC_{com} = \frac{nb_m IC_m(age_{eq}) + nb_f IC_f(age_{eq})}{nb_m + nb_f}$$

$$age_{eq} = \frac{\left(nb_m age_m^2 + nb_f age_f^2\right)}{nb_m age_m + nb_f age_f}$$

Le coefficient d'ajustement est alors calculé par rapport à cet IC et celui renseigné par l'utilisateur. Enfin, ce coefficient est appliqué aux deux courbes d'IC de référence de chaque sexe (IC_m et IC_f).

2.4. Cas spécifique : productions avec parcours

La précédente version du BRS tenait compte de la part de l'excrétion ayant lieu sur le parcours en appliquant un coefficient de répartition sur l'excrétion totale. Cependant, certains animaux n'ayant accès à l'extérieur que sur une partie de leur période d'élevage, cette méthode introduisait une image grossière de la dynamique d'excrétion au parcours. De par sa définition, la nouvelle méthode offre la possibilité de connaitre la part de l'excrétion avant et après l'âge d'accès au parcours. Il est donc possible d'appliquer un coefficient de répartition limité à la part d'excrétion lorsque les animaux ont un accès à l'extérieur. A l'aide des travaux réalisés par (Ponchant *et al*, 2014), (Méda *et al*, 2011) et (Méda *et al*, 2015), un nouveau coefficient de répartition a été obtenu. Les données expérimentales de ces études (réalisées sur des poulets labels) ont été confrontées au nouveau calculateur afin d'estimer la part d'excrétion au parcours. Ainsi, en appliquant le calcul de la valeur d'excrétion au parcours sur la part d'excrétion dès lors où les animaux ont accès à l'extérieur, un ratio de 30 % a pu être calculé (correspondant à 25% de l'excrétion totale). Cette approche peut être transposée à d'autres productions, moyennant la connaissance de l'âge d'accès au parcours des animaux.

CONCLUSION

La refonte méthodologique vise à rendre l'outil de calcul d'excrétion plus lisible et conceptuellement plus juste. La réalisation du bilan à échelle du jour et non plus du lot permet à l'utilisateur de mieux comprendre les leviers (croissance, ingestion, mortalité, ponte...) qui conditionnent l'excrétion. Cette révision permet également de mieux prendre en compte la variabilité de conduites d'élevage (productions sexées, productions avec parcours) et de mieux modéliser leurs valeurs d'excrétions. Cette nouvelle méthodologie à été reconnue par le comité scientifique et technique « Gestion des éléments nutritifs et des émissions vers les milieux » ce qui permet d'inscrire l'outil comme calculateur de référence d'excrétion des ateliers avicoles dans le cadre du 7eme Plan Action Nitrate (à l'exception des volailles élevées sur parcours.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ITAVI. 2013. Estimation des rejets d'azote, phosphore, potassium, calcium, cuivre et zinc par les élevages avicoles. Mise à jour des références CORPEN 2006. 63 pages.

Méda B., 2011, manuscrit de thèse, 239 pages.

Méda B., Hassouna M., Lecomte M., Germain K., Dourmad J-Y et Robin P., 2015. Biosystems Engineering 139, 35-47.

Ponchant P., Germain K., Lamothe E. et Ollivier S., 2014. Rapport du projet Casdar Parcours, 10 pages.

Ponchant P. TéMa n°42, Avril – Mai – Juin 2017. 6 pages

Tableau 1. Liste des équations utilisées, (A, δ, k, γ, a, b, c, α sont des paramètres calculés à partir de régressions non linéaires sur les données sélectionneurs correspondantes)

Grandeur	Equation
Poids Vif (PV, kg)	$A(1+(\delta-1)e^{-k(t-\gamma)})^{\frac{1}{1-\delta}}$
Poids Vif (PV, kg) (pondeuse)	$A+b-ce^{-\alpha t}$
Indice de consommation (IC, -)	$at+bt^2+c(1-e^{-kt})$
Mortalité cumulée (%)	$at+bt^2+c(1-e^{-kt})$
Production d'œufs cumulé (kg)	$at+bt^2+ct^3+\frac{d}{k}(e^{-kt}+1)$

Figure 1. Schéma du nouvel outil de calcul BRS

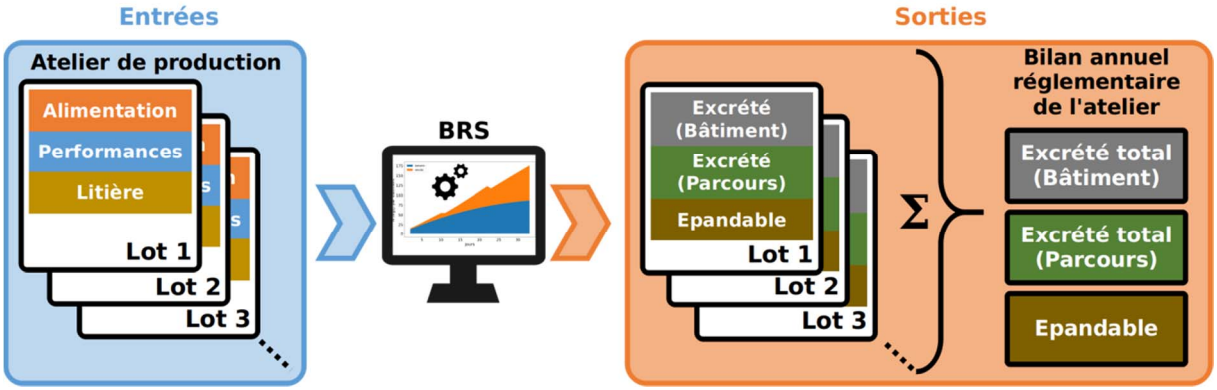
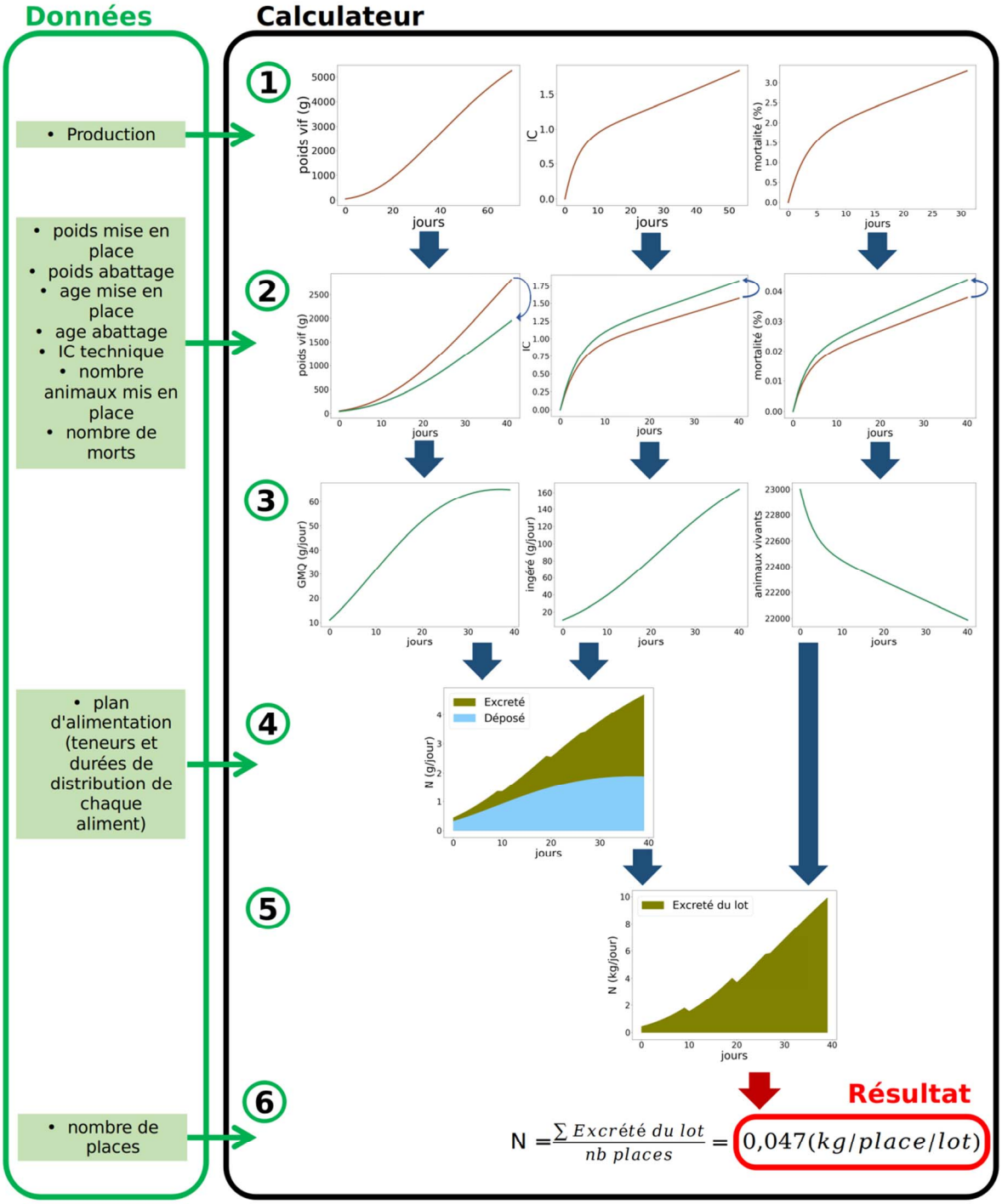


Figure 2. Description de l'algorithme de calcul



BENEFICES ENVIRONNEMENTAUX DE LA BAISSE DU NIVEAU DE PROTEINE BRUTE DANS L'ALIMENT POULET DE CHAIR : QUANTIFICATION PAR APPROCHE META-ANALYTIQUE

Nozeran Anaïs[1], Fontaine Simon[1], Létourneau-Montminy Marie Pierre[2], Lambert William[1]

[1]METEX NØØVISTAGO – 32 Rue Guersant - 75017 PARIS,
[2]Université LAVAL - 2325 Rue de l'université – QC G1V 0A6 QUEBEC, CANADA
Simon.fontaine@metex-noovistago.com

RÉSUMÉ

Le développement de stratégies alimentaires favorisant l'utilisation optimale des ressources protéiques représente un levier d'action majeur pour assurer la durabilité des productions avicoles. Une méta-analyse a été réalisée afin d'évaluer les effets de la réduction de la matière azotée totale (MAT) sur l'impact environnemental de la production de poulets de chair. Une base de données compilant 29 essais commerciaux a été créée. Les essais devaient répondre aux critères suivants : 1) la baisse de protéine était l'objectif de l'essai, 2) être menés par des entreprises du secteur avicole, 2) les aliments formulés devaient être iso-énergie et iso-lysine digestible au sein d'un essai, 3) la fourniture en acides aminés (AA) indispensables devait couvrir les recommandations Rostagno et al. (2017) avec une variation de 5%. Dans ces essais, la réduction en MAT entraîne un remplacement total ou partiel dans l'aliment du tourteau de soja par des céréales (maïs, blé), tourteaux d'oléagineux (colza, tournesol), coproduits végétaux ou légumineuses, et AA libres. Des analyses de la variance (ANOVA) d'indicateurs d'intérêt ont été menées en modèle linéaire général avec l'expérience en effet fixe et le taux de MAT en covariable. Tous les résultats sont exprimés ensuite par point de réduction de MAT. La réduction de MAT accompagnée d'un maintien de la lysine digestible et des AA indispensables permet d'améliorer l'efficacité azotée (+3,3 points de % ; P < 0,001), de réduire les excrétions quotidiennes d'azote (-0,18 g N/ j ; -12,1 % ; P < 0,001), les émissions totales de protoxyde d'azote (-0,12 g N_2O ; -16,2 % ; P <0,001) et d'ammoniac (-1,6 g NH_3 ; -22,5 % ; P < 0,001). L'empreinte carbone calculée par tonne de poids vif sur la période est significativement réduite, mais cette réduction varie en fonction des AA utilisés, qu'ils soient produits en Europe (-145 kg eq.CO_2/ T poids vif ; -7,3 % ; P <0,001) ou hors Europe (- 35 kg eq.CO_2/ T poids vif ; -1,6 % ; P <0,001). Cette méta-analyse permet de mieux appréhender et quantifier les bénéfices environnementaux liés à une stratégie de réduction du taux protéique dans l'aliment poulet de chair.

ABSTRACT

Environmental benefits of crude protein reduction in broiler chicken diets: quantification *via* a meta-analysis

Development of feeding strategies favouring optimal usage or protein resources represents a major action lever to ensure sustainability of poultry sector. A meta-analysis was run to evaluate effects of different strategies of crude protein (CP) reduction on environmental impact of broiler chicken production. A database compiling 29 trials was created. Trials had to fulfil certain criteria as follows: 1) to be run by poultry sector companies, 2) formulated diets had to be iso-energetic and iso-digestible lysine in a same trial, 3) essential amino acids (AA) levels in the diets were assumed at requirements. In these trials, reducing CP led to its partial or total replacement with cereals (corn, wheat), meals (rapeseed, sunflower), other vegetable by-products or legume seeds, and free AA. Analyses of variance (ANOVA) were performed for interest indicators with general linear models including experiment as a fixed effect and CP level as a covariate. Following results are expressed per point of CP reduction. Reducing CP together with maintaining digestible lysine and essential AA improves nitrogen retention efficiency (+3.3% pt ; P<0.001), reduces nitrogen daily excretion (-0.18 g N/d; -12.1%; P <0.001), nitrogen peroxide total emissions (-0.12 g N_2O ; -16.2% ; P<0.001), as well as ammonia emissions (-1.6 g NH_3 ; -22.5% ; P<0.001). Carbon footprint calculated per ton of liveweight on experimental period is also more or less reduced, whether the AA used were produced in Europe (-145 kg eq.CO_2/ T liveweight; -7.3 % ; P<0.001) or outside Europe (-35 kg eq.CO_2/ T liveweight; -1.6 % ; P<0.001). This meta-analysis allows us to better understand and quantify environmental benefits related to a CP-reduction in the diets of broiler chickens.

INTRODUCTION

La nécessité de mesurer et maîtriser les impacts environnementaux des activités agricoles se fait chaque jour plus prégnante. La filière poulet de chair est associée à des problèmes liés à l'azote (N), aux émissions d'ammoniaque (NH_3) et de CO_2 par la consommation de tourteaux de soja importée. En effet, en fonction de son origine, cette matière première est potentiellement issue de la déforestation, facteur pris en compte lors du calcul de l'empreinte carbone. La diminution de la teneur en protéine de l'aliment est une stratégie alimentaire permettant d'avoir un effet positif sur ces deux problématiques. En revanche, il est nécessaire de maintenir les performances des animaux. Cela est rendu possible par l'utilisation d'acides aminés (AA) libres commercialement disponibles (L-Arginine, L-Isoleucine, L-Valine entre autres). Ainsi, l'objectif de la méta-analyse présentée ici était notamment de quantifier les bénéfices de la réduction de la teneur en protéine brute de l'aliment poulet de chair à partir d'essais représentant au mieux les conditions terrain.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Base de données

Tous les essais commerciaux réalisés entre 2015 et 2021 par l'entreprise METEX NØØVISTAGO avec des partenaires commerciaux ou de recherche et respectant certains critères ont été rassemblés dans une base de données. Deux publications récentes (Lemme et al., 2019 ; Van Harn et al., 2019) ont été ajoutés car respectant également les critères qui sont les suivants : : 1) la baisse de protéine était l'objectif de l'essai, 2) être menés par des entreprises du secteur avicole, 2) les aliments formulés sont iso-énergétiques et iso-lysine digestible, et 3) les AA indispensables jusqu'à arginine, valine et isoleucine doivent être contrôlés selon Rostagno et al. (2017) avec une variabilité de 5%. Au total, 20 essais répartis en 29 expériences en fonction des protocoles d'essais ont été rassemblés. Dans le cadre de la méta-analyse, les expériences issues d'un même essai ont été considérées comme indépendantes car répondant à des baisses de MAT d'ampleur différentes toutes caractéristiques égales par ailleurs.

Les essais rassemblés présentent une variété des génétiques, de sexage des animaux, d'âge à l'abattage, de phases alimentaires et de stratégie de remplacement du soja qui permettent de tester la réponse des animaux dans une grande variété de situations et d'observer une potentielle homogénéité de réponse.

Les caractéristiques nutritionnelles des aliments des essais ont été recalculés à partir des tables INRA-AFZ 2004 exceptée la matière azotée totale (MAT), analysée dans le laboratoire de METEX NØØVISTAGO. Seules ont été utilisées les valeurs de MAT recalculées pour les essais issus de publications externes.

Les indicateurs de performances ont été mesurés dans chaque essai (données non-montrées). Les indicateurs d'impact environnemental ont été calculés, pour N et ses dérivés (ammoniac, NH_3 ; protoxyde d'azote, N_2O) à partir des données de performance ainsi que de modèles développés à partir des travaux de Belloir et al. (2017) pour l'excrétion et la volatilisation de N. Le calcul de la volatilisation de NH_3 s'est basé sur la valeur d'excrétion de N et une méthode de calcul développée par le GIEC y a été appliquée. Quant aux émissions de N_2O, un calcul supplémentaire à l'excrétion de N issu de recommandations de l'EMEP a été appliqué. Les émissions de CO_2 ont d'abord été calculées par tonne d'aliment produit. L'analyse de cycle de vie des aliments a donc été effectuée jusqu'à la sortie de l'usine de fabrication. Pour les matières premières, les valeurs utilisées ont été extraites de la base de données GFLI 2019. Les valeurs des micro-ingrédients ont été prises dans la base de données EcoAlim v7 du fait de l'absence de données pour ces ingrédients dans GFLI 2019. Les valeurs utilisées étaient les valeurs RER, autrement dit les valeurs moyennes en fonction de l'utilisation européenne. Pour les AA libres, les valeurs utilisées ont été extraites de l'analyse de cycle de vie réalisée par l'entreprise EVEA sur les AA de METEX NØØVISTAGO et d'autres AA disponibles sur le marché (Cappelaere et al., 2022). Ces valeurs par tonne d'aliment ont ensuite été recroisées avec les données de performance des animaux afin d'obtenir l'empreinte carbone par tonne de poids vif de poulet. L'analyse de cycle de vie de la tonne de poids vif de poulet est donc allée jusqu'à la sortie du bâtiment d'élevage.

1.2. Analyse statistique

Les indicateurs environnementaux d'intérêt ont été analysés *via* des analyses de la variance (ANOVA) de type III en générant pour chaque indicateur un modèle linéaire général avec l'effet essai en effet fixe et le taux de MAT en covariable. Les calculs ont tous été effectués sur Minitab version 19.2020.1.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

1.1. Effet sur l'azote, son utilisation et ses dérivés

La réduction de la MAT dans l'aliment des poulets de chair entraîne une hausse significative de l'efficacité azotée des animaux de +3,3 points de % par point de baisse de MAT ($P < 0,001$; figure 1). Cela s'explique par un maintien des performances (données non-montrées) et donc un maintien du dépôt de muscle en dépit d'une baisse de N ingéré. Par conséquent, les excrétions quotidiennes d'N sont réduites significativement de 0,18 g N/ j/ animal par point de

baisse de MAT ($P < 0,001$), ce qui équivaut à une réduction de 12,1% par point de baisse. Par ailleurs, les émissions totales de N_2O et de NH_3 sont également significativement réduites de 0,12 g N_2O ($P < 0,001$) et 1,6 g NH_3 ($P < 0,001$) par animal par point de baisse de MAT. Cela correspond à des baisses de 16,2 % et 22,5% par point de baisse de MAT, respectivement.

Ces résultats sont globalement en accord avec les observations de Méda et al. (2011), Wiedemann et al. (2016) et Belloir et al. (2017), qui ont observé une augmentation significative de l'efficacité azotée ainsi qu'une baisse de l'excrétion d'N. En revanche, il est important de noter que les aliments doivent être supplémentés avec des AA libres afin de répondre aux besoins en AA essentiels des animaux et ainsi maintenir leurs performances (Méda et al., 2019).

La baisse des émissions d'NH_3 est liée à la baisse des excrétions d'N, mais aussi à une baisse de l'humidité de la litière (Hernández et al., 2012 ; Wiedemann et al., 2016 ; Belloir et al., 2017). Une baisse de teneur en MAT de l'aliment s'accompagne en général d'un remplacement du tourteau de soja par des céréales et des AA libres dans l'aliment. Or, le tourteau de soja est riche en potassium, qui stimule la consommation d'eau et augmente l'humidité des fientes. Une baisse de l'ingestion de tourteau de soja entraîne donc une baisse de l'ingestion d'eau et donc de son excrétion. Une baisse de l'humidité des fientes entraîne une baisse de l'humidité de litière, et donc une baisse de la prévalence des pododermatites. Selon Belloir et al. (2017), la baisse de MAT dans l'aliment concomitante à la baisse d'ingestion de tourteau de soja pourrait avoir un effet synergétique sur les émissions d'NH_3.

Le N_2O est une molécule a fort potentiel de réchauffement climatique. Pourtant, il existe pour l'instant peu d'études qui mesurent cette molécule. Wiedemann et al. (2016) ont mesuré les émissions de N_2O mais n'ont pas observé d'effet direct significatif de la baisse de MAT. En revanche, la baisse des émissions de NH_3 montrait un effet indirect de baisse des émissions de N_2O.

Il s'agit de rappeler que les résultats obtenus par méta-analyse sont issus de modèles de calculs linéaires et donnent des résultats linéaires de la baisse par point de MAT dans l'aliment des poulets de chair. Les calculs de l'excrétion et de la volatilisation d'N sont sûrs et bien documentés. En revanche, on utilise des coefficients fixes pour le calcul de la volatilisation de NH3 et des émissions de N_2O. Il est possible qu'un modèle non-linéaire soit plus adapté, avec potentiellement une altération de l'effet de la baisse de protéine, de la teneur en azote et de l'humidité de la litière sur la composition et la proportion des gaz émis à partir du N excrété. Des travaux à ce sujet sont en cours.

1.2. Effet sur l'impact carbone de la viande de poulet

D'après les calculs et les données issues de la méta-analyse, la réduction de la MAT dans l'aliment poulet de chair entraîne une baisse significative de l'empreinte carbone de la production de viande de 145 kg équivalent CO_2 par tonne de poids vif ($P < 0,001$; figure 2A), ce qui correspond à une baisse de 7,3 % par point de baisse de MAT, lorsque les valeurs d'empreinte carbone associées aux AA étaient celles liées à leur production en Europe. Lorsque les valeurs associées aux AA étaient celles liées à leur production hors Europe, la baisse de la MAT montrait encore une baisse significative de l'impact carbone de la production de viande de volaille mais seulement de 35 kg équivalent CO_2 par tonne de poids vif ($P < 0,001$; figure 2B).

Ce résultat concorde avec les données exprimées par Cappelaere et al. (2021) et Giannenas et al. (2017), qui trouvent qu'une baisse du niveau de MAT dans l'aliment entraîne une baisse de l'impact carbone, autrement appelé potentiel de réchauffement climatique (global warming potential). Cette diminution peut s'expliquer par un remplacement du tourteau de soja dans l'aliment. En effet, les éléments riches en protéines, et plus particulièrement le soja, constituent le plus gros poste lié à l'impact carbone de l'aliment des poulets de chair (Cesari et al., 2017). En le remplaçant par des matières premières possédant un impact environnemental moins important, tel que le blé, le maïs ou le tournesol, il apparaît logique que l'impact carbone de la production de viande de poulet diminue. Cette différence s'explique par la valeur élevée du soja importé liée à la déforestation et à la modification de biomes que cette culture peut entraîner, notamment en Amérique du Sud.

En revanche, Ogino et al. (2021) n'ont pas observé d'effet significatif de la baisse de la MAT d'un point de pourcent sur les émissions de CO_2 par kg de gain, mais seulement une baisse numérique d'environ 30 kg eq. CO_2/ T de poids vif. Il est important de noter que les aliments dans cet essai n'ont pas été formulés avec les nouveaux AA disponibles, i.e. valine, isoleucine et arginine. Ceci pourrait en partie expliquer la baisse limitée de l'impact environnemental de la MAT dans l'aliment des poulets de chair.

Il est important de noter que le calcul de l'empreinte carbone d'un aliment et indirectement de l'empreinte carbone de la viande de poulet produite à partir de cet aliment dépend grandement de la valeur donnée aux matières premières lors du calcul. Il est donc essentiel d'exprimer les valeurs CO_2 utilisées dans les calculs et le choix de ces valeurs, d'autant plus que les matières premières qui le composent et la fabrication de l'aliment représentent le poste le plus fortement émetteur de CO_2 dans l'analyse de cycle de vie d'un poulet de chair, soit plus de 50% (FAO, 2013). Ici, on a pu observer que l'origine des AA peut avoir un fort effet sur l'impact carbone de l'aliment et donc de la tonne de viande de volaille produite. Les différences entre les valeurs des AA proviennent principalement des mixes énergétiques utilisés par les pays

producteurs, mais aussi des matières premières dont sont issus les nutriments voués à la nutrition des bactéries synthétisant les AA.

CONCLUSION

Grâce aux nouveaux AA disponibles (L-Val, L-Ile, L-Arg), il est désormais plus facile de réduire la teneur en MAT de l'aliment des poulets de chair sans risquer de diminuer les performances des animaux. La baisse de la teneur en MAT permet d'améliorer l'impact environnemental de l'élevage en poulet de chair par deux leviers. D'un côté, l'efficacité azotée est améliorée, entraînant une diminution des excrétions d'N et des molécules possédant un fort impact environnemental qui en découlent (NH_3, N_2O). D'un autre côté, la baisse de la teneur en MAT de l'aliment permet une baisse d'inclusion de tourteau de soja, ce qui entraîne une baisse de l'impact carbone de l'aliment produit, plus ou moins forte en fonction de l'origine des AA utilisés, et indirectement du kg de poids vif produit. La baisse de la MAT avec supplémentation en AA de synthèse aux recommandations en incluant les nouveaux AA disponibles est donc une stratégie alimentaire permettant d'améliorer la durabilité des systèmes de productions de volaille.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Belloir, P., Méda, B., Lambert, W., Corrent, E., Juin, H., Lessire, M., & Tesseraud, S., 2017. *Animal*, *11*(11), 1881-1889.

Cappelaere, L., Le Cour Grandmaison, J., Martin, N., & Lambert, W., 2021. *Frontiers in veterinary science*, 799.

Cappelaere, L., Létourneau-Montminy, M-P., Lambert, W., Martin, N., Garcia-Launay, F. 2022, *54èmes Journées de la Recherche Porcine.*

Cesari, V., Zucali, M., Sandrucci, A., Tamburini, A., Bava, L., & Toschi, I., 2017, *Journal of cleaner production*, *143*, 904-911.

FAO, 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome 2013 pp. 171

Giannenas, I., Bonos, E., Anestis, V., Filioussis, G., Papanastasiou, D. K., Bartzanas, T., ... & Skoufos, I., 2017. *PloS one*, *12*(1), e0169511.

Hernández, F., López, M., Martínez, S., Megías, M. D., Catalá, P., & Madrid, J., 2012. *Poultry Science*, *91*(3), 683-692.

Lemme, A., Hiller, P., Klahsen, M., Taube, V., Stegemann, J., & Simon, I., 2019, *Journal of Applied Poultry Research*, *28*(4), 867-880.

Méda, B., Hassouna, M., Aubert, C., Robin, P., & Dourmad, J. Y., 2011, *World's Poultry Science Journal*, *67*(3), 441-456.

Méda, B., Belloir, P., Narcy, A., & Wilfart, A., 2019, *22nd European Symposium on Poultry Nutrition* (p. np).

Ogino, A., Oishi, K., Setoguchi, A., & Osada, T., 2021, *Agriculture*, *11*(10), 921.

Rostagno, H. S., Teixeira Albino, L. F., Hannas, M. I., Donzele, J. L., … 1 Brito, C. O., 2017, 4. Ed., 451- 488.

Van Harn, J., Dijkslag, M. A., & Van Krimpen, M. M., 2019, *Poultry science*, *98*(10), 4868-4877.

Wiedemann, S. G., Phillips, F. A., Naylor, T. A., McGahan, E. J., Keane, O. B., Warren, B. R., & Murphy, C. M. 2016, *Animal Production Science*, *56*(9), 1404-1417.

Tableau 1. Tableau descriptif de la base de données utilisée pour la méta-analyse (n = 29 expériences)

	Moyenne	**Min – Max**	**Ecart-type**
Teneur en MAT analysée, phase expérimentale (%)	18,81	16,88 – 21,90	1,138
Teneur en Lys dig. attendue, phase expérimentale (%)	1,032	0,98 – 1,15	0,048
Ratios AA dig/Lys dig attendus (%):			
Thr	67,15	64,72 – 70,00	1,78
Val	78,26	74,40 – 82,01	1,85
Ile	67,13	64,48 – 70,57	1,71
Arg	106,96	103,00 – 114,23	3,35
Âge à l'abattage (j)	37,00	30,00 – 48,00	4,77
Génétique	Ross 308 (n = 27 expériences), Cobb 500 (n = 2 expériences)		
Périodes expérimentales	Démarrage (n = 1 expérience) ; Démarrage + Croissance (n = 1 expérience) ; Démarrage + Croissance + Finition (n = 1 expérience) ; Croissance (n = 1 expérience) ; Croissance + Finition (n = 7 expériences) ; Croissance + Finition + Retrait (n = 6 expériences) ; Vie entière (n = 12 expériences)		

Figure 1. Effet du niveau de matière azotée totale (en % de l'aliment) sur l'efficacité azotée (en points de %) des poulets de chair (n=29). La ligne rouge représente l'équation en modèle linéaire général des données de la méta-analyse.

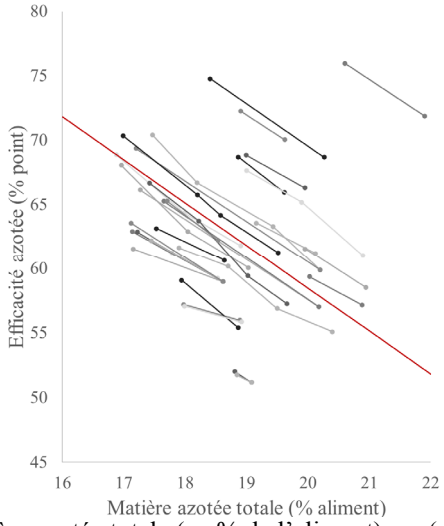
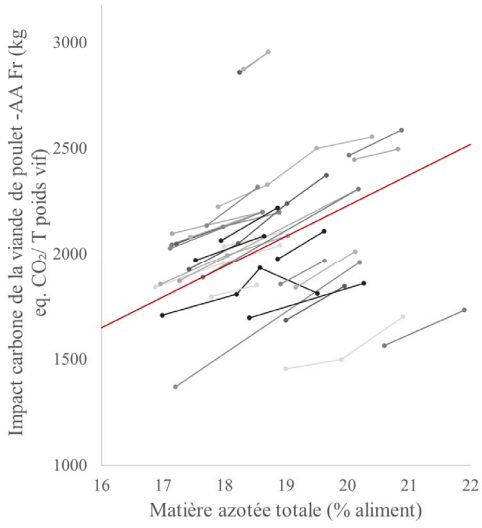
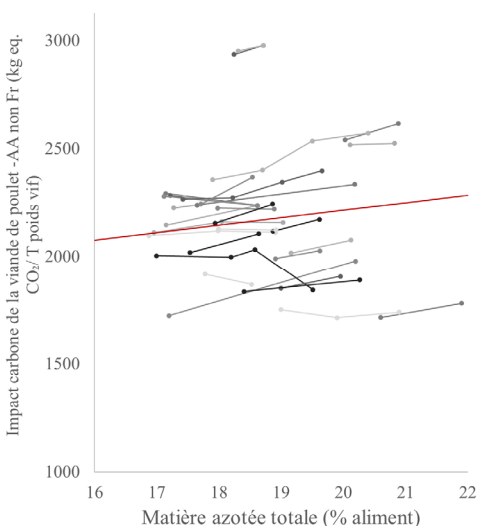


Figure 2. Effet du niveau de matière azotée totale (en % de l'aliment) sur (A) l'impact carbone des poulets de chair dont l'aliment est supplémenté en acides aminés d'origine européenne (en kg eq. CO_2/ T poids vif) (n=29) et (B) l'impact carbone des poulets de chair dont l'aliment est supplémenté en acides aminés d'origine non-européenne (en kg eq. CO_2/ T poids vif) (n=29). La ligne rouge représente l'équation en modèle linéaire général des données de la méta-analyse.

A



B



Bénéfices environnementaux de la baisse du niveau de protéine brute dans l'aliment poulet de chair: quantification par approche méta-analytique

Anaïs NOZERAN[1], Simon FONTAINE[1], Marie-Pierre LETOURNEAU-MONTMINY[2], William LAMBERT[1]

[1]METEX NØØVISTAGO, 32 Rue Guersant, 75017 PARIS
[2] Université LAVAL, 2325 Rue de l'université, QC G1V 0A6 QUEBEC, CANADA

Introduction

- Il est important de mesurer et maîtriser les impacts environnementaux de la filière poulet de chair, notamment les excrétions d'azote (N), les émissions d'ammoniaque (NH_3) et de CO_2 par la consommation de tourteaux de soja potentiellement lié à la déforestation (facteur pris en compte lors du calcul de l'empreinte carbone d'un produit).
- Diminuer la teneur en protéines en maintenant les performances des animaux permet d'améliorer l'impact environnemental de la filière *via* l'utilisation d'acides aminés (AA) libres jusqu'à la L-Valine, la L-Arginine et la L-Isoleucine.
- **Cette méta-analyse a pour objectif de quantifier les bénéfices de la réduction de la teneur en protéine brute de l'aliment poulet de chair sur l'impact environnemental des animaux à partir d'essais représentant au mieux les conditions terrain.**

Matériel et méthodes

- Base de données (n = 29 expériences) des essais commerciaux réalisés par METEX NØØVISTAGO avec des partenaires.
- Critères à respecter pour les essais inclus:

1) la baisse de protéine est l'objectif de l'essai; 2) essai mené par une entreprise du secteur avicole; 3) aliments iso-énergétiques, iso-lysine digestible; 4) AA contrôlés jusqu'à Valine, Arginine et Isoleucine selon Rostagno et al. (2017).

- Diversité des essais intégrés (Tableau 1).
- Caractéristiques nutritionnelles des aliments recalculées à partir des tables INRA-AFZ 2004 excepté pour la MAT.
- Excrétion et volatilisation de N calculés à partir des performances des animaux et des travaux de Belloir et al. (2017).
- Volatilisation de NH_3 calculée à partir de la valeur d'excrétion de N et d'un modèle de calcul développé par le GIEC.
- Emissions de N_2O calculées à partir de l'excrétion de N à laquelle un modèle de calcul de l'EMEP a été appliqué.
- Emissions de CO_2 calculées d'abord par tonne d'aliment en sortie d'usine. Données Climate change utilisées : GFLI pour les matières premières, EcoAlim pour les micro-ingrédients et résultats de l'analyse de cycle de vie d'EVEA pour les AA produits par MNG et ses concurrents.

Tableau 1. Tableau descriptif de la base de données utilisée pour la méta-analyse (n = 29 expériences)

	Moyenne	Min – Max	Ecart-type
Caractéristiques nutritionnelles			
MAT analysée, phase expé (%)	18,81	16,88 – 21,90	1,138
Teneur en Lys dig., phase expé (%)	1,032	0,98 – 1,15	0,048
Ratios AA dig/Lys dig attendus (%):			
Thr	67,15	64,72 – 70,00	1,78
Val	78,26	74,40 – 82,01	1,85
Ile	67,13	64,48 – 70,57	1,71
Arg	106,96	103,00 – 114,23	3,35
Animaux et expériences			
Âge à l'abattage (j)	37,00	30,00 – 48,00	4,77
Génétique	Ross 308 (n = 27 exp), Cobb 500 (n = 2 exp)		
Périodes expérimentales	D (n = 1 exp) ; D + C (n = 1 exp) ; D + C + F (n = 1 exp) ; C (n = 1 exp) ; C + F (n = 7 exp) ; C + F + R (n = 6 exp) ; VE (n = 12 exp)		

D = démarrage; C = croissance; F = finition; R = retrait; VE = vie entière; exp = expérience; MAT = Matière azotée totale

- Valeurs CO_2 par tonne d'aliment recroisées avec les performances des animaux pour obtenir l'impact de l'aliment sur l'empreinte carbone par tonne de poids vif de poulet en sortie d'élevage.
- Indicateurs environnementaux analysés par ANOVA de type III en générant pour chaque indicateur un modèle linéaire général avec l'effet essai en effet fixe et le taux de MAT en covariable. Calculs effectués sur Minitab version 19.2020.1

Résultats

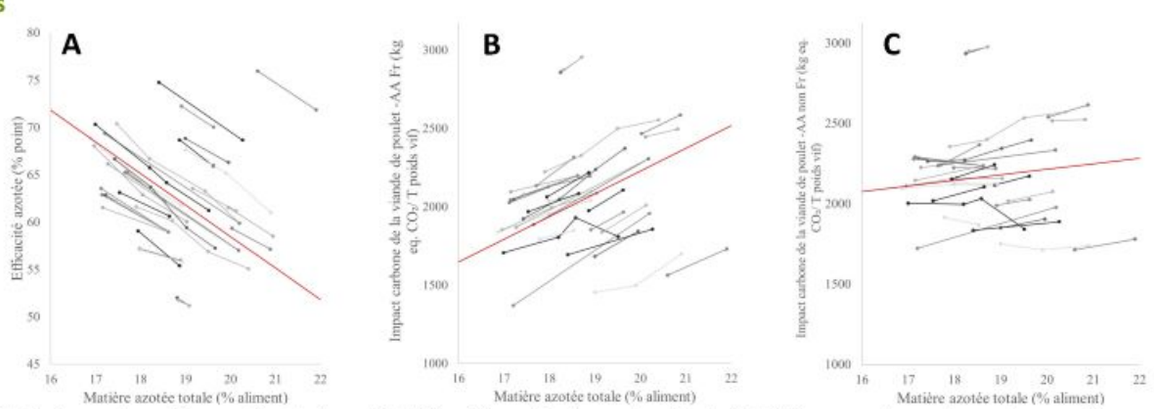


Fig. 1 Effet du niveau de matière azotée totale sur (A) l'efficacité azotée des poulets de chair, (B) l'impact carbone des poulets supplémentés en acides aminés produits en Europe et (C) l' impact carbone des poulets supplémentés en acides aminés produits hors Europe (n=29).

Baisse de MAT de 1 point de %

+3,3 points de % d'efficacité azotée (P <0,001);
-1,6 g de NH3 volatilisé (-22,5%; P <0,001)
- 145 kg équivalent CO2 / T poids vif avec des **AA produits en Europe**

-0,18 g/j d'N excrété (-12%; P <0,001)
-0,12 g de N2O émis (-16%; P <0,001)
- 35 kg équivalent CO2 / T poids vif avec des **AA produits hors Europe.**

Conclusion

Avec les nouveaux AA disponibles, il est possible de continuer à réduire la teneur en MAT en maintenant les performances des animaux.
La baisse de la MAT dans l'aliment des poulets de chair permet de diminuer l'impact environnemental de la filière en améliorant d'un côté l'efficacité azotée, ce qui entraîne une diminution des excrétions azotées. De l'autre côté, baisser la teneur en MAT diminue la teneur en soja de l'aliment, entraînant une baisse de l'impact carbone de l'aliment plus ou moins forte en fonction de l'origine des AA supplémentés.

La baisse de la MAT avec supplémentation en AA de synthèse aux recommandations en incluant les nouveaux AA disponibles (L-Val, L-Arg, L-Ile) est une stratégie alimentaire qui permet d'améliorer la durabilité des systèmes de production de volaille.

Références:
Belloir, P., Méda, B., Lambert, W., Corrent, E., Juin, H., Lessire, M., & Tesseraud, S. (2017). Reducing the CP content in broiler feeds: impact on animal performance, meat quality and nitrogen utilization. *Animal*, *11*(11), 1881-1889.
Rostagno, H. S., Teixeira Albino, L. F., Hannas, M. I., Donzele, J. L., … 1 Brito, C. O. (2017). Tabelas brasileiras para aves e suínos : composição de alimentos e 2017 exigências nutricionais. 4. Ed., 451- 488.

EFFET DE LA TENEUR EN PROTEINE ET DES CONDITIONS D'ELEVAGE SUR L'EMPREINTE ENVIRONNEMENTALE DES ALIMENTS EN POULET ROSS 308

C. Raybaud[1], P. Moquet[1], L. Vernerey[1], N. Brevault[1], S. Lecuelle[2], S. Fontaine[2] et W. Lambert[2]

[1]MIXSCIENCE - 2 avenue de Ker Lann – 35172 BRUZ, FRANCE
[2]METEX NØØVISTAGO - 36 Rue Guersant – 75017 PARIS, France

charlotte.raybaud@mixscience.eu

RÉSUMÉ

L'impact environnemental des productions animales est un sujet d'actualité récurrent. En volaille de chair, la production des aliments peut représenter à elle seule plus de 80% de l'impact global. Les aliments, et notamment la réduction de la protéines brutes (PB), représentent donc un levier majeur à étudier lorsque l'on s'intéresse à l'impact environnemental d'un élevage. Un essai a été mené pour étudier l'effet d'une baisse de PB dans deux conditions d'élevage sur les critères environnementaux. Pour cela, 1305 poulets Ross 308 ont été répartis aléatoirement selon un plan factoriel 3*2 avec 3 niveaux de PB (Témoin : T, T-1pt et T-2pts) et 2 conditions d'élevage (CO : conditions optimales, CNO : conditions non optimales) avec 5 répétitions par groupe. Les taux de PB étaient de 22.0, 20,5, 18,5 et 17,5% pour les aliments témoin des phases démarrage, croissance, finition et retrait respectivement. Les groupes à faibles taux de PB ont été formulés en réduisant le niveau de PB de 1 ou 2 points dans toutes les phases mais en apportant tous les AA indispensables au niveau du besoin. La lysine digestible et l'AMEn ont été maintenus constants dans tous les groupes. Le tourteau de soja a ainsi été graduellement remplacé par du blé et des acides aminés (AA). Les CNO ont été obtenues en augmentant la densité de 15,4 à 18,1 oiseaux/m², en remplaçant l'anticoccidien par une solution vaccinale et les copeaux de bois de la litière par de la paille entière. Une ANOVA bidirectionnelle a été réalisée pour comparer les groupes et les valeurs $p<0,05$ ont été jugées significatives. Selon notre outil MatriCIEL®, les CNO ont eu un impact négatif sur l'empreinte environnementale par tonne de vif (+1 à 2% sur les 7 critères étudiés en CNO comparé aux groupes en CO). En CNO, la baisse de PB a permis d'améliorer l'impact environnemental global : changement climatique -6.6%, consommation d'énergie -1.0%, occupation du sol -2.0%, acidification -2.8%, eutrophisation terrestre -1.6%, eutrophisation des eaux de surface -10.8% et eutrophisation marine -5.4% pour le T-2pts comparé au T. En conclusion, cette étude démontre que la baisse de PB améliore les résultats environnementaux de la production de poulet de chair. Toutefois, l'empreinte environnementale d'une production n'est pas seulement dépendante de l'alimentation. L'amélioration des conditions d'élevage peut également être un levier de progrès sur lequel travailler.

ABSTRACT

Effect of dietary crude protein and rearing conditions on environmental footprint of Ross 308 broiler

The environmental impact of animal production is a recurring topical issue. In broiler poultry, food production alone can account for more than 80% of the overall impact. Food, and in particular the reduction of CP, represent a major lever to be considered when considering the environmental impact of a livestock. Therefore, the purpose of this trial is to investigate the effect of a decrease in CP under two rearing conditions on environmental criteria. A total of 1,305 male Ross 308 were randomly allocated to a 3 x 2 factorial design with 3 CP levels (Control : T, T-1pt and T-2pts) and 2 rearing conditions (Optimal: CO and suboptimal: CNO) as experimental factors. Each treatment was replicated 5 times. Dietary CP levels were 21.8, 20.3, 18.3, and 17.3%, in the starter, grower, finisher 1 and 2 T diets, respectively. Low CP treatments were formulated by reducing CP level by 1 or 2 pts in all phases. Soybean meal was gradually replaced by wheat and feed-grade amino acids (AA). All indispensable AA were adequately supplied at the level of assumed requirement, digestible Lys and AMEn were kept constant across treatments. Changes in rearing conditions were achieved by using Paracox vaccine at 0 and 9 d of age, removing coccidiostats, replacing wood shaving by long straw as bedding material and increasing density from 15.4 to 18.1 bird/m² for S kept birds. A two-way ANOVA was used to compare groups and P-values <0.05 were deemed significant. According to our MatriCIEL® tool, CNO had a negative impact on the environmental footprint per tonne of live (+1 to 2% on the 7 criteria studied in CNO compared to the CO groups). In CNO, the decrease in CP has made it possible to improve the global environmental impact: climate change -6.6%, energy consumption -1.0%, land use -2.0%, acidification -2.8%, terrestrial eutrophication -1.6%, eutrophication of surface waters -10.8% and marine eutrophication -5.4% for T-2pts compared to T. In conclusion, this study demonstrates that the decrease in CP improves the environmental outcomes of broiler production. However, the environmental footprint of a production is not only dependent on food. Improving livestock conditions can also be a lever for progress.

INTRODUCTION

D'après la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) l'élevage représente 14,5% des émissions de gaz à effet de serre induites par les activités humaines, et les émissions provenant de la production, la transformation et le transport des aliments représentent 45% des émissions du secteur agricole (Gerber *et al.*, 2013). Si on prend comme exemple l'élevage des poulets de chair en élevage conventionnel, la production des aliments (culture et transformation des matières-premières) peut représenter à elle seule plus de 72% de l'impact changement climatique (Prudêncio da Silva *et al.*, 2014). Les aliments représentent donc un levier majeur à étudier lorsque l'on s'intéresse à l'impact environnemental d'un élevage (Garcia-Launay *et al.* 2018). L'un des moyens de réduire l'impact environnemental des aliments est de baisser le niveau d'incorporation des tourteaux de soja importés (impact environnemental important lié à la déforestation ainsi qu'au transport de la matière première; Monteiro *et al.*, 2016) et donc par conséquent de réduire la teneur en protéines brutes (PB) des aliments.
Un essai a donc été mené afin d'étudier l'effet d'une baisse de PB dans deux conditions d'élevage sur les impacts environnementaux liés à la production et au transport des aliments.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

L'essai a été mené au MiXscience Research Center (MRC ; Saint-Symphorien : Sarthe). 1305 poussins mâles Ross 308 d'un jour issus d'un même lot de reproducteurs de 29 semaines ont été approvisionnés du couvoir ORVIA. Les animaux ont été répartis de façon aléatoire dans 30 parquets selon un plan factoriel 3×2 (3 niveaux de protéines brutes , 2 conditions d'élevage) pour donner un total de 6 groupes, 5 répétitions par groupe de 40 ou 47 animaux afin de créer une différence d'accès à l'eau et à l'aliment entre les deux conditions d'élevage. La mise en lot a été effectuée en fonction du poids moyen par parquet à l'arrivée des animaux. Les animaux ont été élevés jusqu'à 42 jours d'âge.

1.2. Conditions d'élevage

Deux conditions d'élevage ont été étudiées : les conditions d'élevage dites optimales (CO) pour les groupes 1, 2 et 3 et celles dites non optimales (CNO) pour les groupes 4, 5 et 6. Les caractéristiques permettant de définir les conditions d'élevage sont définies dans le Tableau 1.
A J35, un détassage des animaux a été réalisé afin de respecter les densités définies : les traitements en conditions optimales passent de 40 poulets par parquet à 30 poulets par parquet. Ceux en conditions non optimales passent de 47 poulets par parquet à 36 poulets par parquet.

1.3. Aliments expérimentaux

Le découpage alimentaire s'est réalisé de la façon suivante : de 0 à 10 jours pour la phase démarrage, de 11 à 21 jours pour la phase croissance, de 22 à 35 jours pour la phase finition et de 36 à 42 jours pour la phase retrait. Seuls les aliments des groupes 1 et 4 sont formulés en suivant l'intégralité des recommandations nutritionnelles liées aux différentes phases d'élevage. Ils correspondent aux groupes Témoin (T). Les groupes 2 et 3, 5 et 6 sont formulés sur les mêmes contraintes nutritionnelles que les groupes 1 et 4 respectivement, mis à part le niveau de protéines brutes (PB) qui est baissé d'un point (T-1pt) ou 2 points (T-2pts). Pour que cette baisse de PB puisse se réaliser, le tourteau de soja a été graduellement remplacé par du blé et des acides aminés (AA) de synthèse. Les ratios en acides aminés digestibles rapportés à la lysine digestible pour les principaux AA (Met, Met + Cys, Thr, Val, Ile, Arg) ont été maintenus. Les formules des aliments sont présentées dans le Tableau 4.

1.5. Mesures

Mesures zootechniques
A chaque changement d'aliment (J10, J21, J35 et J42), les animaux ont été pesés collectivement afin de déterminer les poids vifs moyens par parquet des animaux par période. La consommation d'aliment a également été enregistrée par parquet et par période. De plus, la mortalité a été relevée quotidiennement sur toute la période de l'essai. L'indice de consommation a ainsi pu être calculé par parquet, puis par groupe en tenant compte de la mortalité des animaux.

Mesures environnementales
Ces mesures ont été réalisées à l'aide de l'outil MiXscience MatriCIEL®. Développé en 2018, il permet de calculer l'impact environnemental de la production/livraison des aliments à partir de leur composition en matières premières. Cet outil est basé sur la méthodologie décrite dans le Feed PEFCR (Feed Product Environmental Footprint Category Rules), rédigé par la FEFAC. Il prend en compte 7 indicateurs d'impacts environnementaux qui sont intégrés directement dans le logiciel de formulation utilisé par MiXscience : changement climatique, acidification, occupation du sol, eutrophisation terrestre, des eaux de surface et marine et consommation d'énergie totale et ce sur 4 étapes :
- la culture ou l'obtention des matières premières ;
- le transport des matières premières vers l'usine de fabrication d'aliment (mode de transport et distance variable selon les matières premières considérées) ;
- la fabrication en usine (consommation d'eau et d'énergie) ;
- la livraison en camion jusqu'à la ferme (130 km) ;

Ainsi, les impacts environnementaux des aliments sont obtenus en même temps que leur prix, composition et caractéristiques nutritionnelles. Ces valeurs sont ensuite mises en relation avec l'ingéré et le gain de poids des animaux par parquet afin d'obtenir un impact environnemental rapporté à la tonne de poulet vif produite.

1.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (v3.2.2). Une analyse de variance (ANOVA) bidirectionnelle a été réalisée pour le poids vif, l'indice de consommation et les 7 critères d'impacts environnementaux rapportés à la tonne de poulet vif, en prenant en compte l'effet de la PB, des conditions d'élevage ou les deux. Le seuil de significativité a été fixé à 5% ($p < 0,05$) en prenant comme unité statistique le parquet. L'analyse statistique de la mortalité a été réalisée quant à elle grâce au test du Khi 2 ($p < 0,05$).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Aucune interaction entre la baisse de PB et les conditions d'élevage n'a été détectée. De plus, aucune différence significative n'a été détectée entre les groupes pour la mortalité. Seuls les résultats significatifs seront commentés ci-après.

2.1. Performances zootechniques

Les résultats de performances zootechniques sont présentés dans le Tableau 2. A J10, J21 et J35, la baisse de PB a engendrée une diminution significative ($p < 0,05$) du poids vif des animaux en conditions optimales. Les conditions d'élevage ont eu un effet significativement négatif ($p < 0,05$) sur les poids vifs des animaux.

La baisse de PB a induit une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'indice de consommation sur la période 0-10 jours. Sur la période 22-35 jours, les conditions d'élevage non optimales augmentent significativement ($p < 0,05$) l'indice de consommation de 8 points pour le groupe CNO/T-1pt comparé au traitement CO/T-1pt.

Sur la période globale 0-42 jours, bien qu'une diminution de poids vif est visible numériquement, l'IC est peu voire pas impacté par la baisse de PB, peu importe les conditions d'élevage. Ces résultats sont confortés par Maynard *et al.* (2021) qui montre des données semblables sur une période 0-41 jours avec des poids vifs non impactés par la baisse de PB mais des indices de consommation qui augmentent significativement, cela probablement dû à une plus forte baisse de la PB de 3 points sur la période croissance. Chrystal *et al.* (2019) montre également que la baisse de PB à des niveaux semblables à ceux étudiés dans cet essai sur la période 14-35 jours n'a aucun impact significatif sur le poids ou l'indice de consommation des animaux.

2.2. Impacts environnementaux

Les résultats environnementaux sont présentés dans le Tableau 3. Les conditions d'élevage non optimales ont eu un impact négatif sur les critères environnementaux rapportés à la tonne de poulet vif produite : +1 à 2% sur les 7 critères étudiés en conditions non optimales comparés aux groupes en conditions optimales.

Peu importe les conditions d'élevage, la baisse de 2 points de PB a permis d'améliorer significativement 4 critères environnementaux sur les 7 étudiés : l'impact changement climatique a été réduit de 6 à 8%, l'acidification de 1 à 2% l'eutrophisation des eaux de surface de 12% à 18% et l'eutrophisation marine de 5 à 9% pour les CO et CNO respectivement. Des résultats similaires sont observés dans la publication de Méda *et al.* (2017) dont les valeurs nutritionnelles sur la période finition 21-35 jours sont semblables (PB : de 19 à 17% ; changement climatique : -6%, eutrophisation : -8%). Toutefois, la publication consiste en une réelle analyse du cycle de vie, là où cette étude ne prend pas en compte les impacts liés à la production des poussins, la fabrication des bâtiments d'élevage ou encore l'estimation des émissions de NH_3, N_2O et CH_4 des effluents.

Il est a noté que la baisse d'un point de PB n'améliore jamais significativement le bilan environnemental des aliments rapportés à la tonne de poulet vif produite, sauf pour l'eutrophisation des eaux de surface qui diminue de 4 à 5% pour les CO et CNO respectivement. Cela peut être expliqué par 1) la baisse de PB d'un point n'a pas dû réduire suffisamment l'entrée du tourteau de soja importé; 2) la dégradation des poids vifs des animaux.

De plus, une plus grande amélioration du bilan environnemental est observée lorsque la PB est réduite dans des conditions d'élevage non optimales. En effet, les conditions d'élevage ayant déjà diminué significativement les poids vifs des animaux, la baisse de PB n'a finalement qu'un très faible impact sur les performances des poulets de chair.

CONCLUSION

Cette étude confirme que la baisse de PB améliore les résultats environnementaux des aliments de poulet de chair notamment par la diminution de l'incorporation de tourteaux de soja importés. Toutefois, l'empreinte environnementale d'une filière n'est pas seulement dépendante de l'alimentation. Dans cette étude, certains critères environnementaux sont impactés par les conditions d'élevage. De ce fait, le choix du modèle de production influe sur l'évaluation environnementale. Cette étude ne consistant pas en une réelle analyse du cycle de vie (rejets non pris en compte par exemple), d'autres essais doivent être menés pour réaliser un bilan global des productions.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chrystal P.V., Moss A.F., Khoddami A., Naranjo V.D., Selle P.H., Liu S.Y., 2019. Poult. Sci., (99), 1421-141.
FEFAC, 2018. PEFCR Feed for food-producing animals.
Garcia-Launay F., Dusart L., Espagnol S., Laisse-Redoux S. Gaudré D., Méda B., Wilfart A., 2018. British Journal of Nutrition, (120), 1298-1309.
Gerber P.J., Steinfeld H., Henderson B., Mottet A., Opio C., Dijkman J., Falcucci A., Tempio, G., 2013. Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
GFLI, 2020. GFLI Database. https://globalfeedlca.org/gfli-database/.
Maynard C.W., Ghane A., Chrystal A.V., Selle P.H., Liu S.Y., 2021. Animal Feed Science and Technology, (276), 114928.
Méda B., Belloir P., Lessire M., Juin H ., Corrent E., Lambert W., Tesseraud S., 2017. 12ème JRAPFG.
Monteiro A.N.T.R., Garcia-Launay F., Brossard L., Wilfart A., Dourmad J.Y., 2016. J. Anim. Sci., (94), 4832-4847.
Prudêncio da Silva V.P., van der Werf H.M.G., Soares S.R, Corson M.S., 2014. J. Environ. Manage., (133), 222-231.
Wilfart A., Espagnol S., Dauguet S., Tailleur A., Gac A., Garcia-Launay F., 2016. PLOS ONE, 11, e0167343.

Tableau 1. Caractéristiques définissant les conditions d'élevage optimales et non optimales.

	Optimales	**Non optimales**
Vaccination Paracox 5	Non	A réception : par nébulisation dans les boîtes Rappel : à J9 dans les plassons
Anticoccidien dans l'aliment	Diclazuril (1 ppm)	Non
Litière	Copeaux	Paille broyée avec repaillage restreint
Densité	15.3 animaux/m² (40 poulets /parquet)	18.1 animaux/m² (47 poulets /parquet)

Tableau 2. Effet de la baisse de protéines et des conditions d'élevage sur le poids vif (PV, en g) et l'indice de consommation (IC). Les valeurs sont représentées selon des moyennes ± l'écart-type.

		Conditions optimales			**Conditions non optimales**			**Effets**	
		T	**T-1pt**	**T-2pts**	**T**	**T-1pt**	**T-2pts**	**PB**	**Conditions d'élevage**
0-10j	PV	269,10 ± 6,58	263,43 ± 8.94	257,90 ± 11.86	269,02 ± 11.75	260,17 ± 5.91	251,72 ± 9.60	ns	ns
	IC	$1,140^{b}$ ± 0.024	$1,157^{ab}$ ± 0.012	$1,186^{a}$ ± 0.026	$1,124^{b}$ ± 0.032	$1,147^{ab}$ ± 0.010	$1,185^{a}$ ± 0.015	***	ns
11-21j	PV	$994,88^{a}$ ± 26.41	$981,11^{a}$ ± 11.29	$937,65^{ab}$ ± 33.66	$970,81^{ab}$ ± 39.31	$963,81^{ab}$ ± 6.35	$919,51^{b}$ ± 35.50	**	**
	IC	1,304 ± 0.058	1,311 ± 0.020	1,312 ± 0.033	1,330 ± 0.028	1,313 ± 0.014	1,336 ± 0.017	ns	ns
22-35j	PV	$2425,60^{a}$ ± 40.04	$2409,43^{a}$ ± 42.92	$2345,72^{ab}$ ± 44.82	$2280,22^{bc}$ ± 70.21	$2255,84^{bc}$ ± 35.66	$2248,51^{c}$ ± 50.85	***	***
	IC	$1,620^{b}$ ± 0.023	$1,632^{b}$ ± 0.031	$1,617^{b}$ ± 0.007	$1,667^{ab}$ ± 0.039	$1,715^{a}$ ± 0.020	$1,625^{b}$ ± 0.023	***	***
36-42j	PV	$3305,04^{a}$ ± 13.53	$3279,00^{a}$ ± 68.06	$3230,59^{a}$ ± 48.38	$3038,33^{b}$ ± 104.48	$3013,53^{b}$ ± 77.96	$3062,38^{b}$ ± 64.87	ns	***
	IC	1,755 ± 0.061	1,780 ± 0.115	1,753 ± 0.065	1,830 ± 0.067	1,793 ± 0.061	1,776 ± 0.055	ns	ns
0-42j	PV	$3305,04^{a}$ ± 13.53	$3279,00^{a}$ ± 68.06	$3230,59^{a}$ ± 48.38	$3038,33^{b}$ ± 104.48	$3013,53^{b}$ ± 77.96	$3062,38^{b}$ ± 64.87	ns	***
	IC	$1,551^{b}$ ± 0,019	$1,570^{ab}$ ± 0,029	$1,559^{b}$ ± 0,018	$1,586^{ab}$ ± 0,017	$1,597^{a}$ ± 0,009	$1,570^{ab}$ ± 0,025	ns	**

* P < 0,05 ; ** P < 0,01 ; *** P < 0,001 ; ns P > 0,05 ; j : jours

Tableau 3. Effet de la baisse de protéines et des conditions d'élevage sur sept indicateurs environnementaux (de la culture des matières-premières à la livraison des aliments en élevage) rapportés à la tonne (T) de poulet vif produite sur la période globale de l'essai 0-42 jours. Les valeurs sont représentées selon des moyennes ± l'écart-type.

	Conditions optimales			**Conditions non optimales**			**Effets**	
	T	**T-1pt**	**T-2pts**	**T**	**T-1pt**	**T-2pts**	**Protéines**	**Conditions d'élevage**
Changement climatique (kg CO2 eq/T)	1139^{ab} ± 14	1128^{b} ± 21	1083^{c} ± 13	1164^{a} ± 12	1142^{ab} ± 6	1092^{c} ± 18	***	***
Consommation d'énergie (MJ/T)	13352^{b} ± 163	13703^{ab} ± 253	13652^{ab} ± 159	13499^{ab} ± 143	13730^{a} ± 77	13641^{ab} ± 221	*	ns
Occupation du sol (m²a/T)	2070^{ab} ± 25	2090^{ab} ± 39	2049^{b} ± 24	2116^{a} ± 22	2115^{a} ± 12	2065^{ab} ± 33	*	**
Acidification (mlcH eq/T)	$16,3^{ab}$ ± 0,2	$16,5^{a}$ ± 0,3	$16,2^{b}$ ± 0,2	$16,6^{a}$ ± 0,2	$16,6^{a}$ ± 0,1	$16,2^{b}$ ± 0,3	*	ns
Eutrophisation terrestre (mlCN eq/T)	$64,6^{b}$ ± 0,8	$65,9^{ab}$ ± 1,2	$65,3^{ab}$ ± 0,8	$65,9^{ab}$ ± 0,7	$66,5^{a}$ ± 0,4	$65,7^{ab}$ ± 1,1	*	*
Eutrophisation des eaux de surface (kg P eq/T)	$0,50^{a}$ ± 0,01	$0,48^{b}$ ± 0,01	$0,44^{c}$ ± 0,01	$0,51^{a}$ ± 0,01	$0,48^{b}$ ± 0,00	$0,44^{c}$ ± 0,01	***	ns
Eutrophisation marine (kg N eq/T)	$8,90^{ab}$ ± 0,11	$8,79^{b}$ ± 0,16	$8,43^{c}$ ± 0,10	$9,09^{a}$ ± 0,10	$8,89^{ab}$ ± 0,05	$8,49^{c}$ ± 0,14	***	**

Tableau 4. Composition et valeurs nutritionnelles des aliments démarrage sur la période 0-10 jours (en % de la formule)

	Démarrage 0-10 jours						Croissance 11-21 jours						Finition 22-35 jours						Retrait 36-42 jours					
	CO/T	CO/T-1pt	CO/T-2pts	CNO/T	CNO/T-1pt	CNO/T-2pts	CO/T	CO/T-1pt	CO/T-2pts	CNO/T	CNO/T-1pt	CNO/T-2pts	CO/T	CO/T-1pt	CO/T-2pts	CNO/T	CNO/T-1pt	CNO/T-2pts	CO/T	CO/T-1pt	CO/T-2pts	CNO/T	CNO/T-1pt	CNO/T-2pts
Matière première																								
Blé	25,0	27,4	29,8	25,2	27,5	29,8	35,2	37,5	39,8	34,9	37,6	40,3	39,7	39,8	39,9	39,8	39,8	39,8	44,939	44,8985	44,858	44,939	44,8985	44,858
Tourteau de soja	28,9	21,4	13,9	29,2	21,5	13,9	16,3	13,9	11,5	16,4	14,1	11,8	10,2	10,9	11,5	10,1	10,9	11,6	14,1	11,7	9,3	14,1	11,7	9,3
Maïs	28,6	23,2	17,8	28,8	23,3	17,7	17,0	15,5	14,0	17,3	15,7	14,0	17,3	18,4	19,4	17,2	18,4	19,5	17,6	18,05	18,5	17,6	18,05	18,5
Son de blé	2,0	6,2	10,3	2,0	6,2	10,4	6,5	6,9	7,3	6,8	6,9	7,0	8,1	7,7	7,2	8,4	7,8	7,2	4,6	5,2	5,8	4,6	5,2	5,8
Gluten 60	2,0	3,2	4,3	2,0	3,2	4,3	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	4,2	2,1		4,2	2,1							
Graine de soja							10,0	7,3	4,5	9,8	7,0	4,1	8,7	7,6	6,5	8,7	7,6	6,4	9	6,5	4	9	6,5	4
Tourteau de colza	2,0	2,2	2,4	2,0	2,2	2,4	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0												
Huile de soja	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Huile de palme	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Bicarbonate de sodium	0,23	0,38	0,52	0,22	0,37	0,52	0,23	0,30	0,36	0,22	0,29	0,36	0,39	0,37	0,35	0,39	0,37	0,35	0,32	0,38	0,44	0,32	0,38	0,44
Phosphate bicalcique	1,12	0,97	0,82	1,12	0,97	0,81	0,46	0,43	0,39	0,45	0,42	0,39	0,14	0,15	0,15	0,13	0,14	0,15	0,15	0,125	0,1	0,15	0,125	0,1
Carbonate de calcium		0,06	0,11	0,44	0,52	0,59				0,35	0,41	0,46				0,40	0,44	0,47	0,35	0,395	0,44	0,35	0,395	0,44
Sel	0,22	0,16	0,09	0,23	0,16	0,09	0,22	0,18	0,13	0,22	0,18	0,13	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,23	0,19	0,15	0,23	0,19	0,15
DL-Méthionine 15%/Blé 85%	1,78	1,94	2,10	1,72	1,91	2,10	1,48	1,69	1,89	1,46	1,67	1,88	1,11	1,38	1,64	1,11	1,38	1,64	1,28	1,505	1,73	1,28	1,505	1,73
L-Lysine HCL 25%/Blé 75%	1,24	2,02	2,80	1,19	2,00	2,80	1,24	1,77	2,29	1,24	1,77	2,29	1,45	1,54	1,62	1,46	1,54	1,62	0,99	1,5	2,01	0,99	1,5	2,01
Thréonine 10%/Blé 90%	1,58	2,29	2,99	1,45	2,22	2,99	1,00	1,58	2,15	0,96	1,56	2,15	0,97	1,32	1,67	0,97	1,32	1,67	0,98	1,53	2,08	0,98	1,53	2,08
Arginine 10%/Blé 90%	0,25	1,84	3,42		1,71	3,42	0,22	1,41	2,60	0,21	1,41	2,60	0,83	1,15	1,47	0,84	1,15	1,46	0,1	1,225	2,35	0,1	1,225	2,35
Isoleucine 10%/Blé 90%		0,90	1,80		0,90	1,80		0,68	1,35		0,67	1,34		0,43	0,86		0,43	0,86		0,67	1,34		0,67	1,34
Valine 10%/Blé 90%	1,02	1,78	2,54	0,88	1,71	2,54	0,77	1,45	2,13	0,77	1,45	2,12	0,70	1,18	1,65	0,70	1,18	1,65	0,77	1,43	2,09	0,77	1,43	2,09
Tryptophane 10%/Blé 90%		0,11	0,22		0,11	0,22		0,11	0,22		0,11	0,22	0,40	0,31	0,22	0,31	0,26	0,22		0,11	0,22		0,11	0,22
QSP[1]	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10	1,39	1,39	1,40	1,39	1,39	1,40	1,36	1,39	1,43	1,36	1,39	1,43	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59
Diclazuril 0.5%	0,50	0,50	0,50				0,50	0,50	0,50				0,50	0,50	0,50									
Nutriments[2]																								
Protéine brute (%)	21,99	20,99	19,99	22,0	21,0	20,0	20,5	19,5	18,5	20,5	19,5	18,5	18,5	17,5	16,5	18,5	17,5	16,5	17,5	16,5	15,5	17,5	16,5	15,5
Matière grasse (%)	4,41	4,44	4,47	4,41	4,44	4,47	6,81	6,26	5,70	6,78	6,20	5,62	7,49	7,18	6,87	7,50	7,17	6,85	6,50	6,03	5,57	6,50	6,03	5,57
E.M. (kcal/kg)	2848	2850	2852	2847	2849	2851	2915	2915	2914	2915	2915	2915	3011	2996	2981	3011	2996	2980	2958	2959	2959	2958	2959	2959
Lysine Digestibles (%)	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Méthionine D[3]./Lysine D.	0,47	0,47	0,48	0,46	0,47	0,48	0,45	0,46	0,48	0,45	0,46	0,47	0,44	0,45	0,47	0,44	0,45	0,47	0,44	0,46	0,48	0,44	0,46	0,48
Méthionine + Cystine D./Lysine D.	0,73	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,73	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,73	0,73	0,72	0,73	0,73	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72
Thréonine D./Lysine D.	0,71	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,67	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66

[1]QSP : premix et prémélanges, enzymes ; [2]valeurs théoriques ; [3]D : digestible

Effet de la teneur en protéine et des conditions d'élevage sur l'empreinte environnementale des aliments en poulet Ross 308

C. Raybaud[1], P. Moquet[1], L. Vernerey[1], N. Brevault[1], S. Lecuelle[2], S. Fontaine[2] et W. Lambert[2]
[1]MIXSCIENCE - 2 avenue de Ker Lann – 35172 BRUZ, FRANCE
[2]METEX NØØVISTAGO - 36 Rue Guersant – 75017 PARIS, France

CONTEXTE & OBJECTIFS

Food and Agriculture Organization of the United Nations

L'élevage représente **14,5%** des émissions de gaz à effet de serre induites par les activités humaines.

45% de ces émissions sont liées à la production, la transformation et le transport des aliments.

En volaille, l'alimentation représente en moyenne **75%** de l'impact environnemental total.

Hypothèses :
Protéines brutes (PB)
=
Soja importés (lié à la déforestation et au transport de la matière première)
=
Impact environnemental des aliments volailles

Objectif :
Etudier l'effet d'une **baisse de PB dans deux conditions d'élevage** sur les impacts environnementaux liés à la production et au transport des aliments.

MATÉRIEL & MÉTHODES

SCHÉMA EXPÉRIMENTAL :

- ✓ **1305 poussins mâles Ross 308**
- ✓ **Période 0 - 42 jours**

Groupe	T	T-1pt	T-2pts	T	T-1pt	T-2pts
PB	PB=	PB-1pt	PB-2pts	PB=	PB-1pt	PB-2pts
Conditions d'élevage	Optimales			Non optimales		

MESURES :

- ✓ **Zootechniques :** poids, consommation, mortalité et indice de consommation à J10, J21, J35 et J42
- ✓ **Environnementales :** 7 indicateurs



Calcul de l'impact environnemental rapporté à la tonne de poulet vif produite.

CONDITIONS D'ÉLEVAGE :

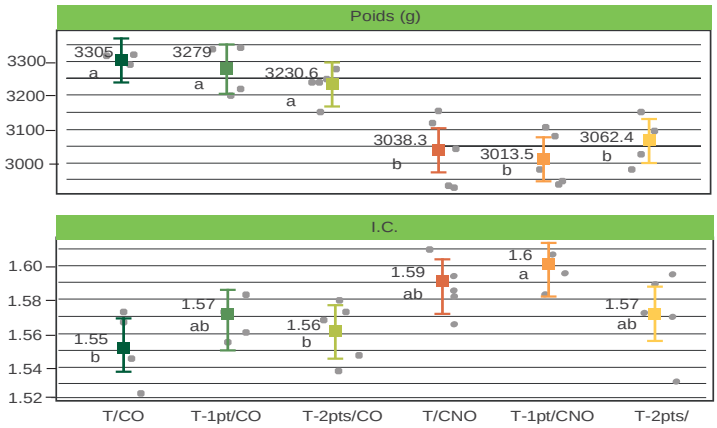
	Optimales (CO)	Non optimales (CNO)
Vaccination	Non	A réception et rappel à J9
Anticoccidien	Diclazuril	Non
Litière	Copeaux	Paille broyée
Densité	15.3 animaux/m²	18.1 animaux/m²

STATISTIQUES :

- ✓ **Logiciel R® Studio (v3.2.2)**
- ✓ **ANOVA bidirectionnelle :** effet de la PB, des conditions d'élevage ou les deux
- ✓ **Seuil de significativité** : 5%

RÉSULTATS

PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES :

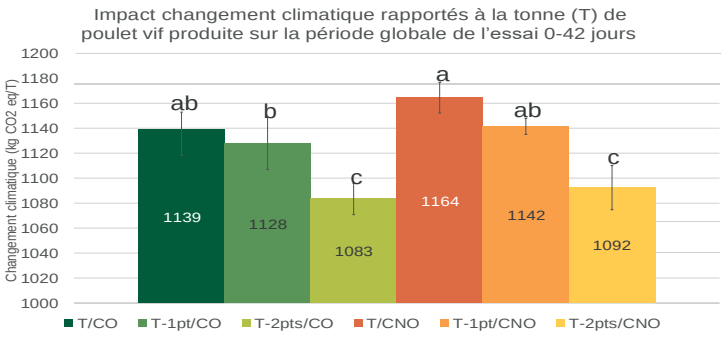


- ✓ **Pas d'interaction entre baisse de PB et conditions d'élevage.**

- ✓ **Effet significatif des conditions d'élevage sur les poids vifs des animaux :** -170g à -270g de poids.

- ✓ **Dégradation numérique des performances par la baisse de PB :** -35g de poids, +2 points d'IC (T-1pt) et -70g de poids et +1pt d'IC (T-2pts) pour les groupes en CO.

IMPACTS ENVIRONNEMENTAUX :



- ✓ **Impact négatif (+1 à 2%) des CNO** sur les 7 critères environnementaux étudiés.

- ✓ **Impact significatif de la baisse de 2pts de PB** sur 4 critères environnementaux selon les conditions CO et CNO :
  - **Impact changement :** -6 à -8% ;
  - **Acidification :** -1 à -2% ;
  - **Eutrophisation des eaux de surface :** -12% à -18% ;
  - **Eutrophisation marine :** -5 à -9%.

CONCLUSION

La **baisse de PB améliore les résultats environnementaux des aliments de poulet de chair** notamment par la diminution de l'incorporation de tourteaux de soja importés.

Les conditions d'élevage et donc le choix du modèle de production peut impacter **le bilan environnemental des poulets de chair**

De futurs essais permettront de réaliser une **analyse de cycle de vie complète** (prise en compte des rejets) selon différents modèles de productions.

© Marketing miXscience - Mars 2022

DES EXTRAITS DE PLANTES ET ELECTROLYTES PERMETTENT DE DIMINUER L'IMPACT DU STRESS THERMIQUE SUR LE COMPORTEMENT DES POULETS

Roux Anaïs, Panhéleux Marina, Robert Fabrice, Sakkas Panagiotis

GROUPE CCPA - ZA du Bois de Teillay, Quartier du Haut Bois - 35150 JANZE,
anais.roux@ccpa.com

RÉSUMÉ
En situation de stress thermique, les poulets de chair adaptent leur comportement afin de favoriser la dissipation de chaleur corporelle vers l'environnement. Parmi ces comportements thermorégulateurs il peut être observé l'ouverture du bec, le déploiement des ailes et une baisse générale de l'activité. L'administration d'un mélange de plantes et d'électrolytes pourrait améliorer la tolérance des animaux à la chaleur. L'objectif de notre étude était de tester l'effet d'une association de flavones, de flavanols et d'électrolytes apportés dans l'eau de boisson sur le comportement de poulets de chair exposés à un stress thermique continu durant la période de finition. 160 poulets Ross 308 ont été répartis dans 32 modules et supplémentés (groupe Essai) ou non (groupe Témoin) avec un mélange de plantes et d'électrolytes de 0 à 35 jours d'âge. Ils ont été exposés à une chaleur constante de 30°C durant la période de finition (21-35 jours d'âge). Leurs comportements ont été observés et enregistrés avant la phase de stress thermique (J20), durant la phase aigüe (J24) et la phase d'adaptation au stress (J31). La réponse comportementale au stress thermique était plus importante à J31, suggérant une baisse de la capacité d'adaptation avec le temps. L'ajout du mélange de plantes et d'électrolytes a significativement réduit la fréquence d'observation des becs ouverts et des ailes déployées durant les phases aigüe et d'adaptation (P<0,05). Une réduction du nombre d'animaux debout a été observée pour le groupe Essai durant la phase aigüe, mais pas pendant la phase d'adaptation. Les fréquences d'alimentation et d'abreuvement n'ont pas été modifiées par la supplémentation nutritionnelle. Ces résultats sont encourageants et suggèrent l'amélioration de la thermotolérance des poulets de chair via l'administration d'un mélange de plantes et d'électrolytes.

ABSTRACT
A blend of plant extracts and electrolytes alleviates the negative impact of heat stress on broiler behavior
Upon heat stress (HS) exposure, broilers express thermoregulatory behaviors to facilitate heat dissipation such as panting (open beaks), wing spreading or decreased levels of general activity. Plant extracts and electrolytes may increase bird thermal tolerance. In the present study, we aimed at investigating the effects of offering a combination of plant extracts and electrolytes on the expression of broiler thermoregulatory behaviors upon constant heat stress exposure during the finishing period. 160 Day-old Ross 308 were allocated in 32 cages and were offered control or supplemented diets from d0-35 of age and were exposed to constant HS (30°C) during the finisher period (d21-35). Behavioral frequencies were measured prior HS exposure, and during the acute phase (d3 after the onset of HS) and stress adaptation phase (d10 after the onset of HS). Broilers showed reduced behavioral capacity to adapt to HS conditions over time, its effects being more pronounced at d10 in comparison to d3. Offering the combination of plant extracts and electrolytes positively affected thermoregulatory responses; open beaks frequency was significantly reduced during the acute period, and wing spreading was significantly reduced during both the acute and adaptation phases (P<0.05). A decreased frequency of standing birds was observed for the supplemented group during the acute phase, but not during the adaptation phase. Eating and drinking frequencies were not significantly affected by additive supplementation. In conclusion, a combination of electrolytes and plant extracts may improve broiler thermotolerance.

INTRODUCTION

L'augmentation des températures due au réchauffement climatique peut avoir un impact important pour la filière avicole. En situation de stress thermique, les poulets de chair adaptent leur métabolisme et modifient leur comportement pour évacuer de la chaleur vers l'environnement extérieur (Renaudeau et al., 2012). L'observation de ces comportements thermo-régulateurs permet d'identifier de façon non-invasive les situations d'inconfort qui peuvent conduire à une altération de la croissance, de l'état de santé, et du bien-être général des poulets (Keeling and Jensen, 2002).

Le stress thermique induit du stress oxydant et une inflammation digestive (Seven et al., 2011 ; Ehran and Bolukbasi, 2011, Quinteiro-Filho, 2012). Certains métabolites secondaires des plantes agissent en faveur de la protection cellulaire grâce à leurs activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires ; c'est notamment le cas des flavonoïdes, pigments végétaux de la famille des polyphénols, dont les catéchines issues du thé vert (*Camellia sinensis*) (Xue et al., 2018 ; Zmrhal et al., 2018). Le stress thermique provoque également un déséquilibre de la balance électrolytique (Borges et al., 2007). L'apport d'électrolytes sous forme de sels via l'eau de boisson permet d'assurer une réhydratation des animaux du fait de leur pouvoir osmotique (Borges et al., 2004).

Notre étude a pour objectif d'observer l'effet d'une association de flavones, de flavanols et d'électrolytes apportés dans l'eau de boisson sur le comportement de poulets de chair exposés à un stress thermique.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Design expérimental

Cent soixante poulets Ross 308 répartis selon leur poids individuel dans 32 modules grillagés de 4 poulets où ils ont été élevés de l'arrivée du couvoir (J0) jusqu'à 35 jours d'âge (J35).

Des aliments commerciaux ont été distribués durant tout l'essai à l'ensemble des animaux, en respectant les besoins nutritionnels de chaque phase de croissance (démarrage J0-J10 ; croissance J10-J21 ; finition J21-J35). 16 modules sélectionnés aléatoirement ont reçu pendant la période de finition (14 jours) un mélange de plantes et d'électrolytes sous forme de poudre soluble (0,15 g/L de *Delta Thermo®Poultry*, Groupe Essai ; E) via l'eau de boisson et ont été comparés à 16 autres modules sans supplémentation (Groupe Témoin ; T).
Les températures et hygrométries ont été relevées quotidiennement durant l'essai au milieu du bâtiment. Durant la période de finition, l'ensemble des modules est exposé à une chaleur constante de 30°C (Figure 1).

1.2. Observations comportementales

Le comportement thermorégulateur des animaux a été observé (becs ouverts et déploiement des ailes), ainsi que leur posture (debout/couchés) et la fréquence de consommation d'eau et d'aliment, à l'aide d'un éthogramme (Tableau 1). Trois sessions d'observation ont été organisées : un jour avant la période de stress thermique (J20), trois jours après le début de la période (J24, soit en phase aigüe de stress thermique) et dix jours après le début de la période (J31, soit en phase dite d'adaptation).
Les modules ont été observés un à un. Au total, six répétitions par session d'observation ont été faites pour chaque module, trois de 10h à 12h, et trois de 14h à 16h (protocole adapté de Mahmoud et al., 2015).

1.3. Analyse statistique

Les données issues des analyses comportementales ont été transformées en fréquences de comportement. Les différences entre les groupes ont été analysées par régression logistique, en prenant en compte dans le modèle la répartition dans le bâtiment, l'observateur et l'effet répétition. Les analyses ont été menées avec le logiciel R 4.0.2.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les fréquences des différents comportements pour chaque date d'observation ainsi que les principaux effets statistiques sont présentés en figure 2.

2.1. Comportements liés au stress thermique

L'exposition à la chaleur a augmenté significativement l'apparition de comportements thermo-régulateurs : becs ouverts et déploiement des ailes (P<0,001), témoignant ainsi de l'induction d'un stress thermique.

Durant les phases d'adaptation et aigüe, le marqueur de stress thermique le plus prononcé était l'observation du déploiement des ailes. Les effets comportementaux du stress thermique étaient plus prononcés pour l'indicateur « becs ouverts » durant la phase d'adaptation (J31) par rapport à la phase aigüe (J24).

Une fréquence plus faible de becs ouverts (P<0,05) a été observée pour le groupe Essai comparativement au groupe Témoin à la fois à J24 (0,51±0,22 VS 0,65±0,23) et à J31 (0,65±0,22 VS 0,67±0,21). La fréquence de déploiement d'ailes était également plus faible pour le groupe Essai par rapport au groupe Témoin (P<0,001) sur ces deux dates (J24 : 0,66±0,24 VS 0,81±0,19 ; J31 : 0,69±0,20 VS 0,78±0,19).

La réduction des comportements thermorégulateurs indique une meilleure adaptation des animaux à leur environnement. L'apport du mélange de plantes et d'électrolytes a permis de tempérer les effets négatifs du stress thermique à long terme. Ces résultats sont cohérents avec les observations de Zmrhal et al. (2018) qui mettent en évidence une réduction des comportements thermorégulateurs en poulet de chair grâce à l'utilisation d'un extrait de flavonoïdes.

2.2. Posture des animaux

Le stress thermique a affecté l'activité générale des poulets, comme le témoigne la baisse de la fréquence d'animaux debout dès le début de la période de chaleur (P<0,01). Durant la période d'adaptation, la fréquence de ce comportement diminue, mais de façon non significative par rapport à la phase aigüe. La diminution de l'activité motrice lors de stress thermique est également observée dans la littérature (Wang et al., 2018), mais l'effet de l'âge doit également pris en compte.

Durant la phase aigüe, la fréquence d'animaux debout avait tendance à être plus faible pour le groupe Essai. Une différence numérique pouvait être observée entre les groupes à J20, mais cette différence n'est pas significative. La baisse du nombre d'animaux debout pourrait évoquer une baisse d'activité dans le groupe Essai. Lors de la phase d'adaptation, aucune différence significative sur la fréquence de poulets observés debout n'a été mise en évidence entre le groupe Essai et le groupe Témoin.

2.3. Consommation d'eau et d'aliment

La fréquence d'animaux en train de manger a été légèrement réduite avec l'élévation de la température (*NS*), conformément à ce que l'on pouvait attendre (Wang et al., 2018). On observe cependant une augmentation de la fréquence de ce comportement lors de la phase d'adaptation. La différence numérique observée en faveur du groupe Essai n'est pas significative car la variabilité de ces données est assez importante, et l'effet entre les répétitions des observations est très significatif (P<0,001). La baisse d'activité observée dans le groupe Essai n'a donc pas induit une moindre fréquence d'alimentation.

Contrairement aux résultats que l'on peut trouver dans la littérature (Bruno et al., 2011 ; Wang et al., 2018), la fréquence d'animaux qui boivent est plutôt stable dans le temps. On observe toutefois une augmentation de ce comportement lors de la période d'adaptation, qui peut être liée à l'âge des animaux.

Lors de la phase aigüe de stress thermique, on observe une augmentation de la fréquence d'abreuvement pour le lot Essai par rapport au lot Témoin (0,021±0,07 VS 0,018±0,04 ; *NS*). Cette fréquence diminue lors de la phase d'adaptation, mais n'est pas différente significativement du Témoin (0,022±0,09 VS 0,031±0,11 ; *NS*).

L'apport de la solution nutritionnelle n'influe donc pas sur la consommation d'eau. La variabilité de cette observation est cependant très importante, avec un effet entre les différentes répétitions des observations et un effet répartition dans le bâtiment tout deux significatifs (P<0,1).

CONCLUSION

Dans notre étude, nous avons observé une réduction des comportements thermorégulateurs avec l'utilisation d'un mélange de plantes riches en flavonoïdes et d'électrolytes. L'efficacité était plus marquée lors de la phase aigüe de stress thermique. L'intensité de la réponse au stress thermique serait liée à la longueur de la période de chaleur. Distribuer une association de métabolites secondaires de plantes et d'électrolytes permettrait donc de réduire significativement les effets comportementaux du stress thermique chez le poulet.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Borges S.A., 2004. Int. J. Poult. Sci., (3), 623–628.
Borges S.A., 2007. Worlds. Poult. Sci. J., (63), 73–81.
Bruno, L.D.G., 2011. Braz. J. Poult. Sci., (13.2), 147-152.
Ehran M., 2011. Ital. J. Anim. Sci., (10), 260-266.
Keeling L. and Jensen P., 2002. In: Jensen, P., Ed., The Ethology of Domestic Animals: An Introductory Text, CABI, Wallingford, 79-98.
Mahmoud U.T., 2015. Appl. Anim. Behav. Sci., (166), 98–105.
Quinteiro-Filho W., 2012. J. Anim. Sci., (90),1986-1994.
Renaudeau D., 2012. Animal, (6), 707–728
Xue B., 2018. Poult. Sci., (97), 599–606
Seven I., 2011. Rev. Med. Vet., (162),186-191.
Wang W.C., 2018. J. Anim. Sci., (96), 1654–1666.
Zmrhal V., 2018. Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun., (66), 939–944.

Tableau 1. Ethogramme

Comportement	***Définition***
Bec ouvert	Le poulet a le bec ouvert pour respirer, avec ou sans vibration de la gorge
Déploiement des ailes	Le poulet, quelque soit sa posture, a les ailes partiellement ou totalement déployées (les flancs sont visibles)
Posture debout	Le poulet se tient debout sur ses pattes
Animaux qui mangent	Le poulet picore l'aliment avec le bec dans le nourrisseur
Animaux qui boivent	Le poulet boit de l'eau à la pipette avec son bec

Figure 1. Variation de la température, de l'hygrométrie et du THI (*Temperature Humidity Index*) dans le bâtiment en fonction de l'âge des poulets

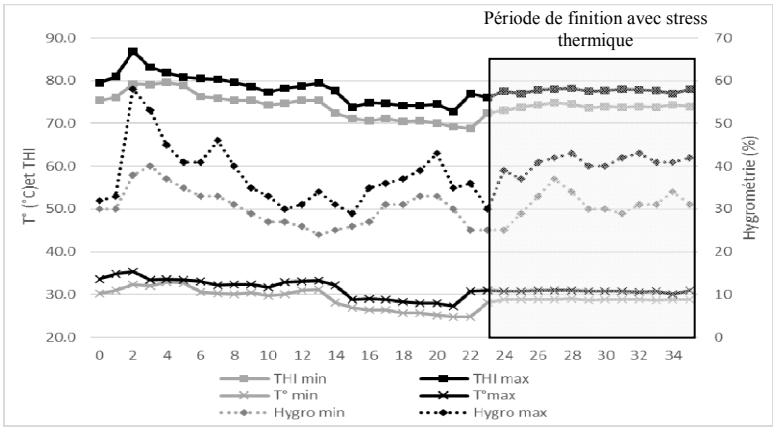
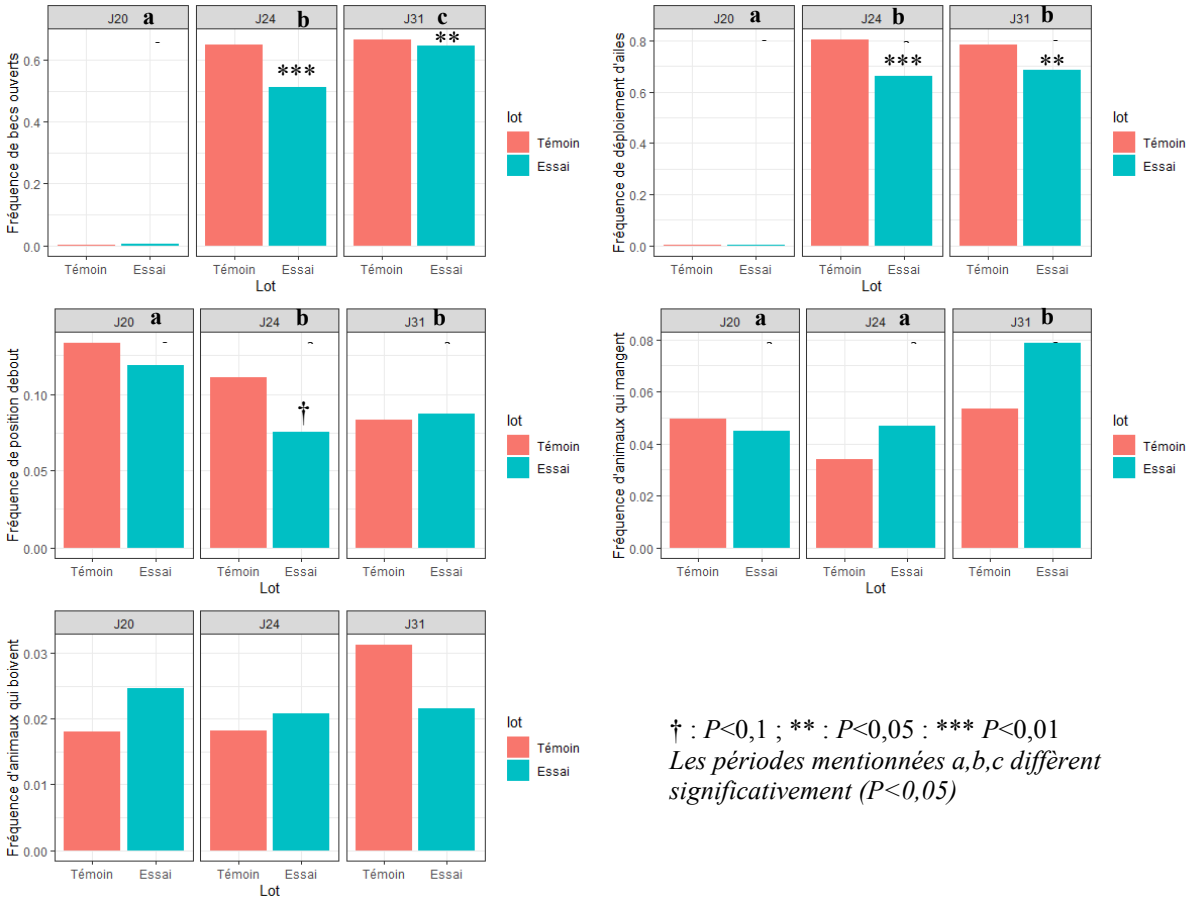


Figure 2. Fréquence de chaque comportement observé à J20, J24 et J31



† : *P*<0,1 ; ** : *P*<0,05 : *** *P*<0,01
Les périodes mentionnées a,b,c diffèrent significativement (P<0,05)

Des extraits de plantes et electrolytes diminuent l'impact du stress thermique sur le comportement des poulets



Roux Anaïs, Panhéleux Marina, Robert Fabrice et Sakkas Panagiotis
Groupe CCPA, Z.A. du Bois de Teillay, 35150 Janzé - France
Contact: anais.roux@ccpa.com

INTRODUCTION

Le réchauffement climatique est un des défis majeurs de la filière avicole. Lors de stress thermique, les poulets de chair modifient leur comportement pour évacuer de la chaleur[1]. L'observation des comportements thermorégulateurs permet d'identifier les situations d'inconfort qui conduisent à une altération de la croissance et de l'état de santé[2]. Les métabolites secondaires des plantes qui possèdent des activités antioxydantes et antiinflammatoires peuvent réduire les effets du stress thermique en favorisant la protection cellulaire[3].

La présente étude a pour objectif d'observer l'effet d'un mélange de flavonoïdes, de thé vert et d'électrolytes sur le comportement de poulets de chair exposés à un stress thermique.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

- *128 poulets mâles Ross 308 de 1 jour répartis par 4 dans 32 cases.*
- *Exposition à un stress thermique constant de 30°C pendant la période de finition (21 à 35 jours d'âge).*
- *Répartition en 2 groupes : Témoin (T) ou Essai (E), le groupe Essai recevant du Delta® Thermo®Poultry sous forme de poudre soluble dans l'eau de boisson.*

OBSERVATIONS COMPORTEMENTALES

- ***3 sessions d'observation :***

- ***J20 :*** *1 jour avant la période de stress thermique,*
- ***J24 :*** *3 jours après le début de la période de stress thermique (phase aigüe de stress thermique),*
- ***J31 :*** *10 jours après le début de la période de stress thermique (phase dite d'adaptation).*

- *Observation du comportement thermorégulateur des animaux (becs ouverts/déploiement des ailes), de leur posture (debout/couchés) et de leur consommation d'eau et d'aliment à l'aide d'un éthogramme, selon une méthode de scan sampling.*

ANALYSE STATISTIQUE

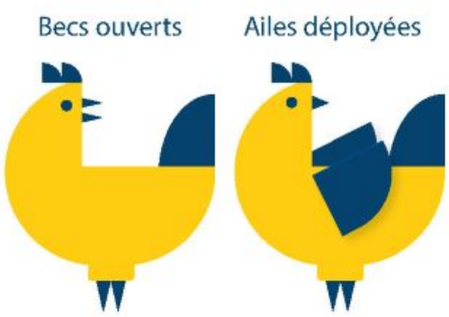
- *Fréquence des comportements analysées par régression logistique (Logiciel R 4.0.2).*

RÉSULTATS

Pendant les phases aigüe (J24) et d'adaptation (J31), **l'ajout du mélange de plantes et d'électrolytes a significativement réduit la fréquence d'observation des becs ouverts et des ailes déployées,** qui sont des comportements thermorégulateurs.

La réponse comportementale au stress thermique observée était **plus importante lors de la phase d'adaptation (J31), suggérant une baisse de la capacité d'adaptation des animaux à la chaleur avec le temps.**

Les fréquences d'alimentation et d'abreuvement n'ont pas été affectées significativement par la supplémentation nutritionnelle.



Figures 1 et 2 : Fréquence d'observation des comportements thermorégulateurs

Figure 1 : Fréquence de becs ouverts (%)

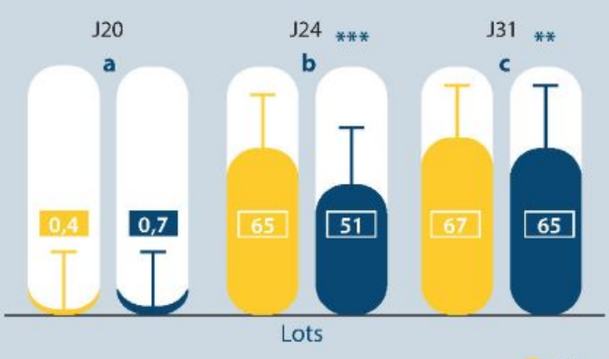
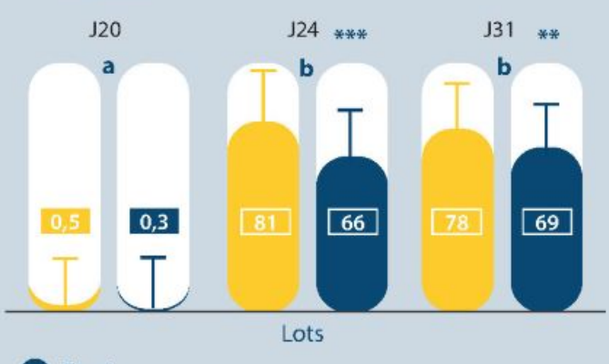


Figure 2: Fréquence de déploiement d'ailes (%)



Les étoiles signalent un effet groupe (témoin / essai), les lettres un effet période (J20, J21, J31) ** : $P<0.05$; *** $P<0.01$- Les périodes mentionnées a,b,c diffèrent significativement ($P<0,05$)

CONCLUSION

Distribuer une association de métabolites secondaires de plantes et d'électrolytes réduirait significativement les effets comportementaux du stress thermique chez le poulet.

1 Renaudeau D., 2012. Animal, (6), 707–728 | **2** Keeling L. and Jensen P., 2002. In: Jensen, P., Ed. |**3** Xue B., 2018. Poult. Sci., (97), 599–606

© Copyright, Janzé, 2022, CCPA

FACTEURS D'ÉMISSION DE PARTICULES EN POULET DE CHAIR

Genot Nicolas[1], Blazy Vincent[2], Galliot Pascal[2], Deruwez Julie[3], Desdouet Emma[3], Hassouna Melynda[4]

[1]Chambre régionale d'agriculture de Bretagne - 4 Avenue du chalutier sans pitié- 22190 PLÉRIN,

[2]ITAVI - rue Maurice le Lannou -35042 RENNES

[3]Chambre régionale d'agriculture des Pays de la Loire - 9 rue André Brouard- 49105 ANGERS

[4]INRAE UMR SAS- 65 rue de Saint-Brieuc- 35042 RENNES

nicolas.genot@bretagne.chambagri.fr

RÉSUMÉ

Cette étude a permis l'acquisition de facteurs d'émissions de particules (TSP, PM10, et PM2.5) des élevages de poulet de chair en France. L'identification et la proposition de facteurs d'émissions plus précis et plus représentatifs des élevages nationaux permettent d'affiner les inventaires d'émissions tout en rendant compte des efforts consentis par la profession pour réduire sa contribution. Ainsi 31 bâtiments de poulet de chair, représentatifs des conditions françaises, ont été suivis dans des situations contrastées (météo, cycle d'élevage, itinéraires techniques…). Pour cela un protocole de mesures, couplant un compteur optique avec une mesure gravimétrique de particules, a été développé et éprouvé. En parallèle les conditions d'ambiance et de ventilation ont été appréhendées grâce au suivi de la température, de l'humidité et de la concentration en CO_2. Les ateliers disposant d'un itinéraire technique couplant un sol terre battue et une extraction latérale ont présentés des facteurs d'émissions de 0.001 ; 0.0085 et 0.016 kg.place^{-1}.an^{-1}, respectivement pour les PM2.5, les PM10 et les TSP. Pour les autres combinaisons (sol béton/ terre battue et extraction haute/ latérale), les facteurs d'émissions de l'EMEP 2019 de respectivement 0.002 ; 0.02 et 0.04 kg.place^{-1}.an^{-1}, pour les PM2.5, les PM10 et les TSP peuvent être employés.

ABSTRACT

Particle emission factors from broiler livestock

This study focused on the assessment of particle emission factors (TSP, PM10, and PM2.5) from broiler farms in France. The identification and proposal of emission factors that are more accurate and more representative of national farms makes it possible to improve the emission inventories while accounting for the efforts made by the profession to reduce its contribution. Thus 31 broiler buildings, representative of French conditions, were monitored in contrasting situations (weather, breeding cycle, technical management, etc.). For this, a measurement protocol coupling an optical counter with a gravimetric particle measurement has been developed and tested. At the same time, the ambient (temperature, humidity and CO_2 concentrations). and ventilation conditions were monitored The farms with a technical management combining a ground floor and a lateral extraction presented emission factors of 0.001; 0.0085 and 0.016 kg. animal place^{-1}.year^{-1}, respectively for PM2.5, PM10 and TSP. For the other combinations (concrete / ground floor and lateral/ ridge extraction), the 2019 EMEP emission factors of respectively 0.002; 0.02 and 0.04 kg. Animal place^{-1}.year^{-1}, for PM2.5, PM10 and TSP can be used.

INTRODUCTION

Les particules sont catégorisées suivant leur taille qui conditionne leur nocivité. Les plus fines, dont le diamètre est inférieur à 2.5µm (PM2.5) sont plus pénétrantes et donc plus nocives que des plus grossières dont le diamètre est inférieur à 10 µm (PM10) et que l'ensemble des particules (TSP). L'aviculture est responsable de respectivement 54, 68 et 46% des émissions de TSP (16.7 kt/an), PM10 (13.9 kt/an) et PM2.5 (2.2 kt/an) issues de l'élevage (Citepa, 2021-données 2019).

Pour les ateliers soumis à la réglementation IED (disposant de plus de 40 000 emplacements de volailles), l'outil GEREP (outil de registre et déclaration annuelle des émissions polluantes et des déchets d'élevage avicole, selon l'annexe 1 de l'arrêté du 31 janvier 2008) décline pour la comptabilisation des émissions de particules la méthodologie du guide technique de l'agence européenne de l'environnement pour la réalisation des inventaires d'émission nationaux (l'EMEP/EEAn2019). Ce guide définit les grands principes et les paramètres de calcul par défaut (approche tiers 1, attribuant un facteur d'émission (FE) à un nombre d'emplacements d'animaux) au cas où le pays ne disposerait pas d'informations plus précises et pertinentes (approches tiers 2 et 3). Il est précisé dans le guide que des données supplémentaires d'émissions de particules sont nécessaires pour mieux apprécier des taux moyens et leur variabilité.

À ce jour, la France ne dispose pas de telles informations et se voit contrainte d'appliquer les FE proposés par l'EMEP. La représentativité de ces niveaux d'émissions des élevages nationaux reste donc à démontrer. En production de poulet de chair, le nombre de facteurs d'émissions publiés reste limité (entre un et neuf), et cela pour chacune des fractions considérées (Tableau 1- d'après EMEP, 2019). Cette étude a donc pour objectif de répondre à cette problématique en étudiant les émissions de particules issues d'élevages de poulets de chair. Elle s'inscrit dans le projet PAPOVIT (Particules en élevages de porcs et de volailles et Itinéraires Techniques), et ambitionne l'acquisition de FE en fonction des principaux itinéraires techniques nationaux.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Description des élevages participants à l'étude

Trente et un bâtiments d'élevage de poulets de chair en claustration du Grand Ouest ont été impliqués dans l'étude. Trois productions principales ont été ciblées dans l'étude : le poulet lourd (22 élevages), le poulet standard (7 élevages) et le poulet export (2 élevages). La surface des ateliers était comprise entre 965 et 2 400m^2 avec une moyenne de 1 330 m^2 (+/-317m^2).

Le choix des élevages a été réalisé selon plusieurs modalités techniques susceptibles d'influencer les émissions de particules dont le type de sol, avec 12 élevages sur terre battue et 19 sur béton. En complément, la modalité d'extraction de l'air a aussi été retenue avec 15 bâtiments en extraction haute et 16 en extraction latérale.

1.2. Protocole de suivi des émissions de particules

Une rapide présentation du protocole de mesure est proposée dans cette partie. Pour plus de détails, il faut se référer à l'article de Lagadec et al. (2020).

Pour chaque élevage, le suivi d'un cycle de production comprenait trois campagnes de mesure d'une durée de 24h comprises entre 4-10j, 14-30j et 25-45j après le démarrage du lot. Le suivi a été réalisé en période chaude (entre mai et septembre) et en période froide (entre décembre et mars)

Les mesures de concentrations en masse et en nombre des TSP, PM10 et PM2.5 sont réalisées au moyen d'un compteur de particules optique (GRIMM 1.109, Grimm Aerosol Technik GmbH&Co. KG, Ainring, Allemagne) équipé d'une sonde radiale isocinétique. En parallèle, une mesure de référence (NF EN 12341) par gravimétrie était réalisée pour mesurer les concentrations moyennes en masse des PM10.

Concernant la mesure du débit de ventilation, la méthode indirecte par bilan CO_2 a été privilégiée (Jacobson et al., 2002). Les concentrations de CO_2 (ambiante et extérieure), la température et l'humidité ambiantes ont été respectivement mesurées à l'aide d'une sonde Vaisala (enregistreur MI70 et sonde GMP 252, Vantaa, Finlande), d'une sonde Kimo (enregistreur KTH 350 et sonde KTHP 150B, Sauermann group, Rennes, France) à l'intérieur de l'élevage et d'un thermo hygro bouton à l'extérieur (SL54TH, Signatrol, Tewkesbury, Angleterre). Les données zootechniques ont été collectées à partir de relevés des systèmes de pesée automatiques.

Le dispositif expérimental a été positionné sur une table à une hauteur d'environ 1.10 m. Dans le cas des bâtiments en extraction latérale, la table était placée à proximité d'un des ventilateurs d'extraction alors que pour les bâtiments en extraction haute, la table était placée au milieu du bâtiment.

1.3. Calcul des facteurs d'émissions

Les FE (en kg.place^{1}.an^{-1}) calculés dans cette étude ont été obtenus par le produit des concentrations moyennes quotidiennes en particules (kg.m^3), des débits moyens quotidiens (m^3.j^{-1}) et le temps de présence moyen des animaux (j.an^{-1}) tenant compte des durées de vides sanitaires (d'après ITAVI 2020). Finalement, les émissions annuelles selon le temps de

présence des animaux sont divisées par le nombre d'animaux présent lors de la mesure.

Les FE finaux, présentés dans les résultats, ont été obtenus en réalisant la moyenne arithmétique des FE issus des différentes campagnes de mesures (soit 140 suivis de 24h sur la totalité des élevages).

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1. Facteur d'émission, incidence de l'avancement du cycle de production

L'incidence de l'avancement du cycle de production sur les FE est notable. Les figures 1.A et 1.B présentent les émissions en PM2.5, PM10 et TSP lors des différentes campagnes. Il apparaît que ces dernières croissent avec l'âge des animaux et cela pour les trois fractions. À noter que l'augmentation entre les campagnes 2 et 3 doit être plus importante mais la pratique de détassage (retrait d'un tiers à la moitié des animaux sur le dernier tiers de la durée d'élevage), a concerné près de la moitié des bâtiments suivis (Figure 1). Ce résultat est conforté par de nombreux auteurs qui ont souligné une contribution aux émissions en masses de variables explicatives reliées au temps de présence des animaux dans le bâtiment (âge, poids, quantités de déjection produites et leur état de décomposition…) (Redwine et al., 2002 ; Lacey et al., 2003 ; Winkel et al., 2015).

2.2. Facteur d'émission, comparaison à la méthode EMEP 2019

Les moyennes des FE de l'ensemble des suivis réalisés dans le cadre de PAPOVIT (n=140) présentent des valeurs légèrement inférieures à celles de l'EMEP 2019. Cette différence peut s'expliquer par la prise en compte de certains itinéraires techniques (couplant type de sol et point d'extraction) présents uniquement dans cette étude et propres à la filière française. (Figure 2).

Les bâtiments disposant d'un sol béton présentent des FE très proches (entre +0 et +18% selon la fraction particulaire considérée) de ceux de l'EMEP 2019. A l'inverse, les bâtiments avec un sol en terre battue (spécificité française) disposent de FE inférieurs à ceux de l'EMEP (entre -26 et-38% selon la fraction considérée). L'incidence des types de sols sur les émissions de particules n'avait jamais été étudiée auparavant. Pourtant cette modalité a une incidence sur l'état de la litière (en termes d'humidité et de granulométrie). L'étude plus précise et quantitative de la litière (prélèvements et analyses physico-chimiques) serait judicieuse pour mieux comprendre son rôle sur l'émission de particules.

Concernant le point d'extraction, les bâtiments avec des systèmes latéraux ont tendance à moins émettre. Une diminution entre 0 et 21% est observable sur sol béton et entre 38 et 44% pour les sols en terre battue pour les différentes fractions particulaires (PM2,5 ; PM10 et TSP). Kic (2016) précise que le lien entre ventilation et émissions de particules s'est plus souvent concentré sur les débits appliqués que la localisation des points d'extraction. Ainsi, l'effet du taux de ventilation et son incidence sur la dilution des concentrations et l'augmentation des émissions ont été également mis en avant dans plusieurs études (Hinz and Linke, 1998; Redwine et al., 2002 ; Calvet et al., 2010).

Van Harn et al., (2010) ont étudié l'incidence du matériau de litière (copeaux de bois, ensilage de maïs, paille de blé et paille de colza) sur les émissions de particules sans distinguer d'écarts notables. Dans notre étude, la répartition déséquilibrée de l'échantillons (surreprésentation de l'effectif de paille broyée) ne permet pas d'arriver à de telles conclusions. Toutefois, peu d'écarts d'émissions de particules ont été observés entre la paille broyée, les cosses de sarrasin et un mélange de granulés et copeaux.

Enfin, l'activité animale est un déterminant qui n'a pas été intégré à cette étude. Pourtant en faisant d'abord le lien avec l'incidence du programme lumineux (Calvet et al., 2009), il semblerait que ce paramètre joue un rôle prépondérant dans les émissions de particules. Fernandez et al. (2019) ont construit un modèle expliquant 51% de la variation quotidienne de la concentration en particules par l'activité animale et le taux de ventilation. Cette piste doit être davantage investiguée afin expliquer la variabilité intra-élevage observée dans nos travaux et la bibliographie.

CONCLUSION

Cette étude a permis de réaliser 140 campagnes de mesures de particules sur 24h lors de périodes climatiques et de cycles de production contrastés dans 31 bâtiments de poulets de chair entre 2018-2020.

Parmi les modalités étudiées la combinaison couplant extraction latérale et sol terre battue présente des FE inférieur de -44 à -56% (selon la fraction considérée) à ceux de l'EMEP 2019, (respectivement 0.001 ; 0.0085 et 0.016 kg. place^{-1}.an^{-1} pour les PM2.5, PM10 et TSP). Pour les autres modalités, les FE de l'EMEP sont représentatifs des conditions d'élevages françaises.

Pour les déterminants des FE de particules, l'âge des animaux fait partis des facteurs expliquant l'augmentation de ces dernières au cours du lot. D'autres éléments explicatifs comme l'activité animale, l'état des litières et le taux de ventilation gagneraient à être inclus dans les suivis d'émissions de particules pour mieux expliquer leur variabilité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Calvet, S., Van den Weghe, H., Kosch, R., & Estelles, F. (2009). The influence of the lighting program on broiler activity and dust production. Poultry Science, 88(12), 2504-2511.
Calvet, S., Cambra-Lopez, M., Blanes-Vidal, V., Estelles, F., &Torres, A. G., 2010. Ventilation rates in mechanically ventilated commercial poultry buildings in Southern Europe: Measurement system development and uncertainty analysis. Biosystems Engineering, 106(4), 423-432.
Citepa, juillet 2021. Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de serre en France – Format Secten, pp496.
Demmers, T. G. M., Saponja, A., Thomas, R., Phillips, G. J., McDonald, A. G., Stagg, S., Bowry, A. and Nemitz, E., 2010, Dust and ammonia emissions from UK poultry houses, in: XVII-th World Congress of the International Commission of Agricultural and Bio systems Engineering (CIGR), Québec City, Canada.
EMEP/EEA air pollutant emission inventory guidebook 2019. Technical guidance to prepare national emission inventories, pp32.
Fernández A., Demmers, T., Tong, Q., Youssef A., Norton T., Vranken E., Berckmans D., 2019. Real-time modelling of indoor particulate matter concentration in poultry houses using broiler activity and ventilation rate. Biosystems Engineering, 187, 214-225.
Hinz, T., and S. Linke. 1998. A comprehensive experimental study of aerial pollutants in and emissions from livestock buildings. Part 2. Results. J. Agric. Eng. Res. 70:111–118.
Jacobson, L. 2002. Development of methods to measure dust (PM10) and ammonia emissions from Minnesota pig facilities. Report.
ITAVI, 2020
Kic, P., 2016. Dust pollution in buildings for chicken fattening. 6th International Conference on Trends in Agricultural Engineering 7 - 9 September 2016, Prague, Czech Republic.
Lacey, R., Redwine, J., & Parnell, C., 2003. Particulate matter and ammonia emission factors for tunnel–ventilated broiler production houses in the Southern US. Transactions of the ASAE, 46(4), 1203.
Lin, X., Cortus, E., Zhang, R., Jiang, S., Heber, A., 2012. Air emissions from broiler houses in California. Transactions of the ASABE, 55(5), 1895–1908.
Modini, R.L., Agranovski, V., Meyer, N., Gallagher, E., Dunlop, M. and Ristovski, Z.D., 2010. Dust emissions from a tunnel-ventilated broiler poultry shed with fresh and partially reused litter, Animal Production Science,50, 552–556.
NF EN 13284-1, 2017 : Émissions de sources fixes - Détermination de faibles concentrations en masse de poussières - Partie 1 : méthode gravimétrique manuelle.
Redwine, J. S., Lacey, R., Mukhtar, S., and Carey, J.. 2002. Concentration and emissions of ammonia and particulate matter in tunnel-ventilated broiler houses under summer conditions in Texas. Trans. ASAE 45:1101–1109.
Roumeliotis, T. S. and Van Heyst, B.J., 2007, Size fractionated particulate matter emissions from a broiler house in Southern Ontario, Canada, Science of the Total Environment, (383) 174–182.
Roumeliotis, T. S., Dixon, B. J., & Van Heyst, B. J., 2010. Characterization of gaseous pollutant and particulate matter emission rates from a commercial broiler operation part II: Correlated emission rates. Atmospheric Environment, 44(31), 3778–3786.
van Harn, J., Aarnink, A., Mosquera, J., and Ogink, N. 2010. Effect of bedding material on dust and ammonia emission form broiler houses. International Symposium on Air Quality and Manure Management for Agriculture, Proceedings of the 13-16 September 2010, Dallas, Texas, United-States.
Winkel, A., Cambra-López, M., Groot Koerkamp, P., Ogink, N., Aarnink, A. 2014. Abatement of particulate matter emission from experimental broiler housings using an optimized oil spraying method. Transactions of the ASABE, Vol. 57(6): 1853-186

Tableau 1. Facteurs d'émissions de l'EMEP 2019 et ses sources (d'après EMEP 2019)

Fraction	PM2,5	PM10	TSP
Facteurs d'émissions en kg.emplacement^{-1}.an^{-1}	0.002	0.02	0.04
Sources	Roumeliotis and Van Heyst 2007 ; Demmers et al. 2010 ; Modini et al. 2010 ; Roumeliotis et al. 2010 ; Lin et al. 2012 cités dans Winkel et al. 2014	Redwine et al. 2002 ; Lacey et al. 2003 ; Roumeliotis and Van Heyst 2007 ; Calvet et al. 2009 ; Demmers et al. 2010 ; Modini et al. 2010 ; Roumeliotis et al. 2010 ; Lin et al.2012 cités dans Winkel et al. 2015 ; Winkel et al. 2014	Winkel et al., 2014

Figure 1. Émissions de PM2.5 (A) et de PM10 et TSP (B) (en kg.place^{-1}.an^{-1}) selon la période de suivi après le démarrage du lot (campagnes 1, 2 et 3 respectivement comprises entre 4-10j, 14-30j et 25-45j).

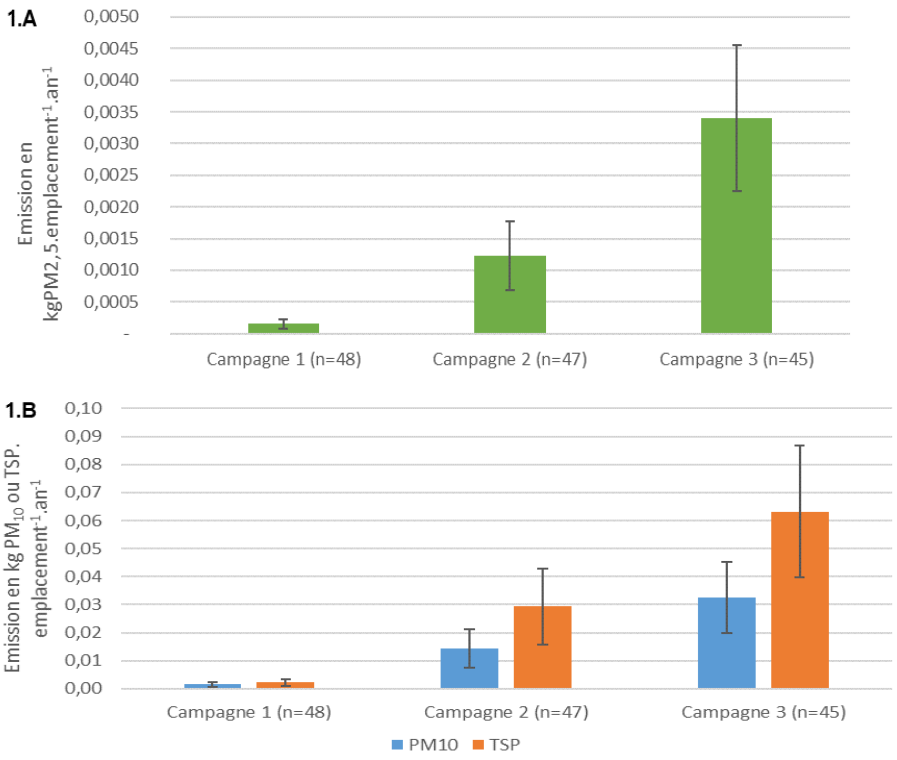
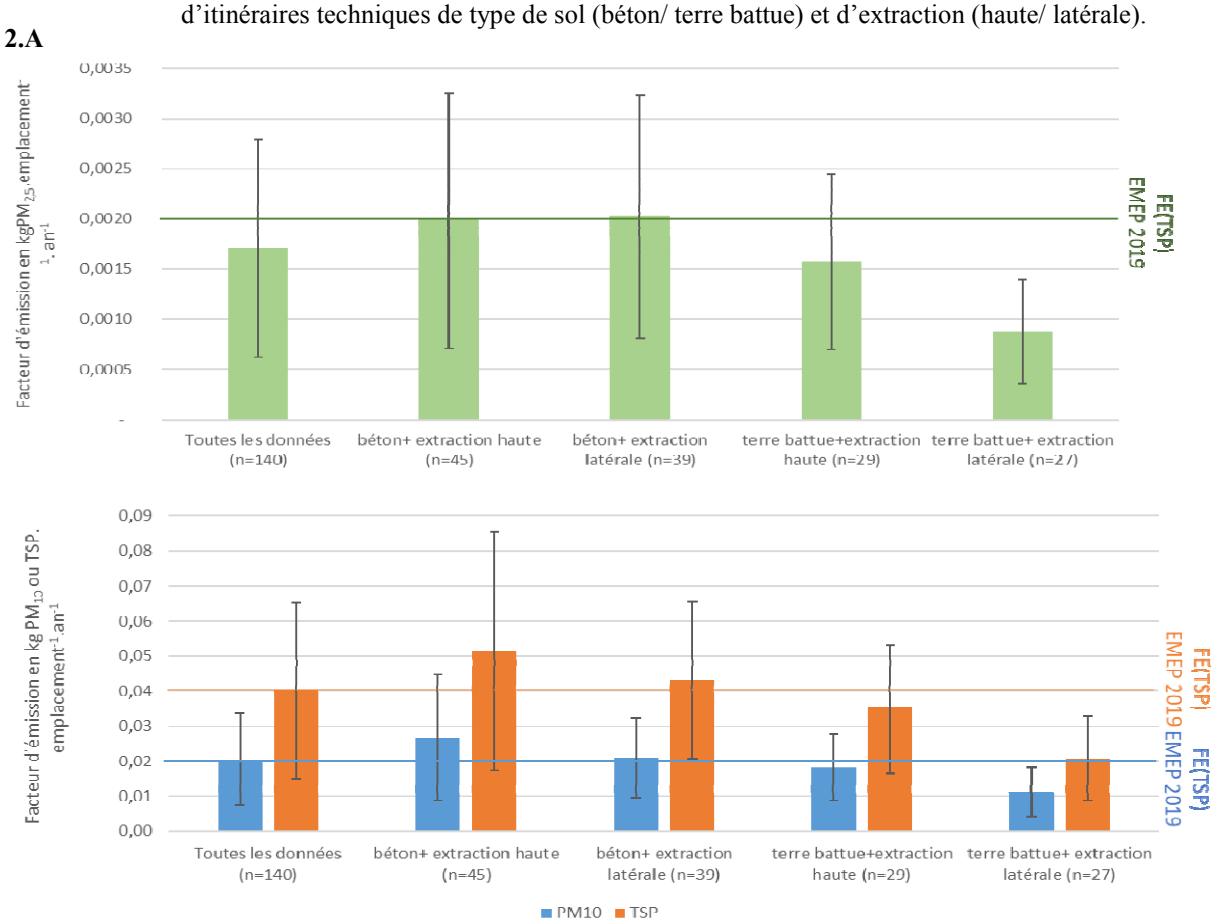


Figure 2. Facteurs d'émissions de PM2.5 (A) et de PM10 et TSP (B) (en kg.place^{-1}.an^{-1}) selon les combinaisons d'itinéraires techniques de type de sol (béton/ terre battue) et d'extraction (haute/ latérale).



QUALITE DE L'AIR EN ATELIER D'ENGRAISSEMENT DE CANARDS : NIVEAUX D'EXPOSITION AUX POUSSIERES, FACTEURS DE VARIATION

Rousset Nathalie[1], Brohan Gaëla[2], Vanhoye Agnès[2], Boizumeau Nicolas.[3], Delaqueze Carole[3], Bouillaud Damien[4], Litt Joanna[1]

[1]ITAVI, 41 rue de Beaucemaine, 22440 Ploufragan, France
[2] Cnam IHIE-SSET Ouest, 165 rue de la Barre, CS 10844, 49008 Angers cedex 1, France
[3] MSA Sud Aquitaine, 70 rue Alphonse Daudet, 40280 Saint-Pierre du Mont, France
[4] MSA Maine et Loire, 49938 Angers Cedex 9, France
[5] Chambre d'Agriculture des pays de la Loire, 9 rue André-Brouard, CS 70510, 49105 ANGERS Cedex 2, France

rousset@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ
Depuis la mise aux normes du mode d'hébergement, la combinaison d'un air plus sec et d'une plus grande liberté de mouvements pour les canards en engraissement, pourraient favoriser une exposition des producteurs accrue aux poussières. Le projet AGAte conduit en 2018-2020, visait à objectiver ces expositions, identifier les activités les plus exposantes, et mettre en évidence des facteurs de variation. Les expositions aux poussières alvéolaires (<5 µm) et inhalables (<100 µm) de 31 producteurs de canards en engraissement ont été mesurées durant 4 types d'activité (« déchargement et mise en place du lot » (MEP), « distribution d'un repas en début de lot » (RDébut), « distribution d'un repas en fin de lot », « chargement du lot pour le départ à l'abattoir »), en hiver et en d'été. En parallèle, différents paramètres potentiellement explicatifs ont été recueillis. L'exposition moyenne est significativement plus importante en hiver qu'en été. Les « MEP » (1,14 mg/m^3 en hiver et 1,32 mg/m^3 en été), et les « Rdébut » (1,65 mg/m^3 en hiver et 0,64 mg/m^3 en été) constituent les activités les plus exposantes. En particulier, un groupe de salles présente des expositions aux poussières alvéolaires plus importantes (2,15 mg/m^3). Elles se caractérisent par des conditions lumineuses ne respectant pas le rythme circadien, des logements plus grands, un raclage des déjections moins fréquent. Cette étude montre que la prévention des risques respiratoires est importante à réaliser auprès des producteurs de canards mais aussi auprès des équipes participant au déchargement ou chargement des camions. Le masque reste un outil indispensable pour se protéger.

ABSTRACT Dust exposure levels of duck overfeeding systems and variation factors
The modifications of duck overfeeding system, due to welfare regulation, have resulted in both drier air and greater freedom of movement for ducks. These factors could cause higher dust exposure for producers. The AGAte project conducted in 2018-2020, aimed to objectify these dust exposures, identify the most exposing activities, and highlight variation factors. Dust exposures (respirable: <5 µm, and inhalable: <100 µm) were measured for 31 duck producers, during 4 types of activities ("unloading and installation of ducks" (INST), "feeding distribution at the beginning of the rearing period" (Feedbeg), "feeding distribution at the end of the rearing period", "loading of ducks into the trucks for departure to the slaughterhouse"). Each type of activity was monitoring in winter and summer. In parallel, various potentially explanatory parameters were collected. The average dust exposure is significantly higher in winter than in summer. The "MEP" (1.14 mg/m^3 in winter and 1.32 mg/m^3 in summer), and the "Feedbeg" (1.65 mg/m^3 in winter and 0.64 mg/m^3 in summer) are the most exposing activities. Particularly, respirable dust exposure was higher for one group of overfeeding system. Light that do not respect the circadian rhythm, larger dwellings, and less frequent scraping of slurry are characteristic of these ducks houses. This study shows that the prevention of respiratory risks is important for duck producers but also for the teams involved in unloading or loading the trucks. The mask remains an essential tool for protection.

CONTEXTE ET INTRODUCTION

En France, les symptômes respiratoires ne sont pas rares en agriculture (Bénézet, et al., 2020 ; Rosemberg, 2016). L'air ambiant des bâtiments d'élevage est en effet chargé de diverses particules (résidus de litière, d'aliments, de plumes, de fientes), elles-mêmes vectrices de bio-contaminants (virus, bactéries, endotoxines), et de gaz (ammoniac, dioxyde de carbone, monoxyde de carbone) (Cambra-Lopez et al., 2010 ; Radon et al., 2002).

Préserver la santé des agriculteurs, ou même tout simplement, garantir le bien-être au travail constitue aujourd'hui un enjeu majeur de la durabilité de ces filières de production.

La filière canards gras en France, implique environ 5 000 producteurs (Cifog 2017). Les troubles respiratoires restent peu étudiés pour les ateliers d'engraissement des canards alors même qu'ils représentent une source d'inquiétude croissante pour les professionnels de ce secteur d'activité. En effet, depuis la mise aux normes du mode d'hébergement (Note de service DGAL/SDSPA/ N2011-8176, du 25 juillet 2011), la combinaison d'un air plus sec et d'une plus grande liberté de mouvements pour les canards (logement collectifs), pourraient favoriser une exposition accrue aux poussières.

Le projet AGAtE 2018-2020 avait pour ambition de contribuer aux démarches de prévention de ces risques respiratoires pour cette filière. Une des étapes consistait à i) objectiver les niveaux d'expositions aux poussières dans ces ateliers, ii) identifier les activités les plus exposantes iii) mettre en évidence des facteurs influençant ces expositions.

1. METHODES

1.1 Population enquêtée et données collectées

31 producteurs de canards en engraissement, dont 9 en région Pays-de-la-Loire et 22 en région Nouvelle Aquitaine, ont participé à l'enquête entre décembre 2018 et août 2019. La population cible du projet était les producteurs spécialisés dans l'engraissement de canards, avec des bâtiments fermés, sans fenêtres spécifiques (600 places minimum). Etaient exclus, les bâtiments semi-ouverts et les salles équipées de fosses sous les cages, ainsi que les producteurs ayant également une autre activité d'élevage.

8 campagnes de mesures ont été réalisées chez chaque producteur (4 campagnes sur 2 lots de canards en période hivernale et estivale).

Pour chaque lot, les campagnes de mesures ont été réalisées durant 4 types d'activité : « déchargement et mise en place du lot » (MEP), « distribution d'un repas en début de lot » (entre le 1er et le 4ème jour de distribution de repas d'engraissement des canards) (RDébut), « distribution d'un repas en fin de lot » (après le 7ème jour de distribution de repas d'engraissement des canards) (RFin), « chargement du lot pour le départ à l'abattoir » (DEP).

Des mesures d'exposition aux poussières alvéolaires (<5 µm) et inhalables (< 100 µm) ont été réalisées à l'aide de deux capteurs CIP10 (TECORA®). Ces capteurs étaient portés par le producteur au moyen d'un baudrier qui permet de les maintenir sur le thorax proche des voies respiratoires. Le CIP10 est constitué d'une pompe aspirant l'air au niveau d'un sélecteur de poussières, avec un débit moyen de 10 l/min. L'enregistrement a été réalisé durant toute la durée de l'activité suivie. Les concentrations moyennes sur la durée de la mesure sont ensuite calculées en mg/m^3, selon une méthode de détermination gravimétrique (INRS, 2015).

En parallèle, différents paramètres potentiellement explicatifs de la variabilité des expositions ont été recueillis ou mesurés, parmi lesquels : i) des renseignements sur les infrastructures de la salle et les pratiques générales de conduite des lots, i) des informations sur les tâches assurées durant la mesure, iii) des informations sur le fonctionnement ou non des équipements de régulation de l'ambiance, et l'enregistrement des températures et taux d'hygrométrie à l'intérieur des salles ; iv) des informations sur le lot de canards suivi.

1.2 Analyse des données

Les variables d'exposition aux poussières suivent une distribution log normale. Il a donc été choisi de décrire les données obtenues par les moyennes géométriques (MG). Les expositions moyennes aux poussières inhalables et alvéolaires ont été comparées en fonction de la saison, en utilisant un test de Student réalisé sur Ln MG. L'impact du type d'activité sur les expositions inhalables et alvéolaires (en hiver, puis en été) a été testé globalement par un test ANOVA à 1 facteur, puis par un test de Student.

Enfin, quatre analyses factorielles de données mixtes (AFDM) sur les variables décrivant les activités « MEP » et « RDébut », pour les lots d'hiver et les lots d'été ont été réalisé pour étudier les facteurs influençant les niveaux d'exposition. Une classification ascendante hiérarchique (CAH) a ensuite été réalisée sur la base des résultats de chaque AFDM. Pour finir, l'impact du facteur « groupes » obtenus à partir des CAH, sur les expositions aux poussières inhalables ou alvéolaires, a été testé (ANOVA à 1 facteur).

2. RESULTATS

2.1 Infrastructures et équipements intérieurs

Seuls 13 % (4/31) des salles suivies ont une capacité inférieure à 600 places. Ces salles ont tout de même été conservées dans l'analyse de données par la suite, les expositions mesurées n'apparaissant pas atypique. Les autres critères de sélection initialement définis ont été respectés.

77% des salles ont été spécifiquement construites pour l'engraissement des canards, les autres sont des bâtiments reconvertis pour cette production. La plupart (74 %) sont relativement récentes (moins de 20 ans, et/ou rénovées il y a moins de 10 ans), et implantées dans un environnement dégagé, c'est à dire sans obstacles à proximité (haies, butte de terrain…) (81 %).
84 % des salles sont équipées de gaine pour le brassage de l'air, le reste de ventilateurs en cascade, et très peu sont équipées d'une brumisation (23 %). Le volume des salles et les débits d'extraction peuvent varier considérablement pour une même capacité d'accueil (tableau 1).
Trois types de logements ont été rencontrés : 4 places (35 % des salles), 5-6 places (39 %) et plus de 6 places (26 %). Les profondeurs d'abreuvoirs sont assez variables 5 à 12 cm et non corrélées au nombre de places par logement. Enfin, 65 % des salles sont éclairées par des néons, les autres par des LEDs ou autre type d'éclairage.

2.2 Tâches assurées par les producteurs durant les campagnes de mesures

Lors de l'activité « MEP », les producteurs sont dans la salle, pendant 85% de la durée totale de mesure en moyenne, avec une variabilité importante (14 à 100 %). Par ailleurs, tous n'effectuent pas les mêmes tâches : la majorité s'occupe d'attraper les canards (80%), et certains de déplacer les cages sur le quai (50%).
Lors de l'activité « RDébut », les producteurs sont dans la salle, pendant près de 90% de la durée totale de mesure en moyenne, avec également une variabilité importante (10 à 100 %). Pour la majorité, la préparation de l'aliment et la distribution du repas sont réalisés durant la mesure (87 % et 77 % respectivement des lots suivis en hiver et en été).

2.3 Fonctionnement des équipements de gestion d'ambiance durant les mesures, et pratiques de conduite des lots

Lors de l'activité « MEP », les extracteurs étaient en fonctionnement dans plus de 80 % des cas (été ou hiver). Le brassage d'air était actif dans 50 % des salles en été, et seulement dans 17 % des salles en hiver. Pour l'activité « RDébut », les extracteurs étaient systématiquement en fonctionnement, du fait de la présence d'animaux. Pour les lots d'été, le brassage d'air était actif pour 80 % des lots, et le pad-cooling pour 40 % des lots (informations non disponible pour les lots d'hiver).
Pour les lots d'été, la majorité des éleveurs ont nettoyé les abreuvoirs tous les 3 jours au maximum (77 %). Pour les lots d'hiver, la majorité (84 %) n'ont nettoyé qu'une ou deux fois les abreuvoirs durant le lot. Le raclage de la fosse a quant à lui été réalisé une à deux fois par lot (84 %), que ce soit en été ou en hiver.
Enfin, 42 % des lots n'étaient pas éclairés durant la journée (en dehors des repas), et 29 % n'étaient pas éclairés durant la nuit (été comme hiver).

2.4 Caractéristiques des lots suivis

Le poids moyen des animaux était de 4,2 kg à la mise en engraissement, sans différence notable entre les lots d'hiver ou d'été. Les performances (mortalité, poids moyen des foies taux de saisie) des lots suivis étaient par ailleurs comparables aux références disponibles (Azizi et Cadudal, 2020).
A leur arrivée, les animaux étaient plus sales en hiver qu'en été (66% *vs* 5% des lots) et moins bien emplumés (respectivement au niveau ventral et dorsal : 43% *vs* 23% et 36% *vs* 16% des lots). Les caisses de transport étaient également plus sales en hiver qu'en été (30 % avec des caisses très sales *vs* 9 %). Les canards, provenant d'élevages en bâtiments fermés pour 23 % d'entre eux, étaient mouillés à leur arrivée pour 67 % des lots d'hiver, et.
En cours de lot, les animaux étaient majoritairement « calmes » en hiver (58 % des lots en début de phase d'engraissement et 87 % des lots en fin d'engraissement). A contrario, en été, les animaux étaient majoritairement « réactifs à agités », en particulier en début de phase d'engraissement (67 % des lots). En fin de période d'engraissement, 39 % des lots d'été avaient toujours ce comportement. Des pertes excessives de petites plumes ont par ailleurs été relevées pour près de 16 % des lots, indépendamment de la phase d'engraissement et de la saison.
Enfin, environ 26 % des producteurs ont lavé leur lot de canards entre la campagne de mesure « MEP » et celle « RDébut ».

2.5 Expositions aux poussières en fonction de la saison et du type d'activité

Tout type d'activité confondue, l'exposition moyenne hivernale est significativement plus importante que l'exposition moyenne estivale, et ce quelle que soit la taille de poussières mesurée ($p < 0,05$) (tableau 1). Aucune corrélation n'a pu cependant être mise en évidence, entre les expositions aux poussières inhalables d'une part, et la température moyenne ($R^2 = 0,03$ pour la période hivernale, et $R^2 = 0,01$ en période estivale), ou l'hygrométrie relative moyenne ($R^2 = 0,02$ pour la période hivernale, et $R^2 = 0,06$ en période estivale) à l'intérieur des salles d'autres part.
Que ce soit en hiver ou été, et quelle que soit la taille des poussières mesurées (inhalable ou alvéolaire), une décroissance des expositions est observée au cours des lots ($p < 0,05$). Ainsi, les activités « MEP » et les « RDébut » ressortent significativement plus exposantes que les autres tâches ($p<0,05$). Les activités « RFin » et « DEP » sont très proches (différences non significatives) et peu exposantes. A titre de comparaison, l'exposition moyenne des éleveurs de poulets de chair aux poussières alvéolaires, mesurée lors d'activité de paillage de poulaillers s'élevait à 1,5 mg/m^3 (Rousset et al., 2017). Les expositions moyennes mesurées dans notre étude lors des

activités de « MEP » et de « Rdébut » sont tout à fait comparables (1,14 mg/m^3 en hiver et 1,32 en été pour les « MEP » ; 1,65 mg/m^3 en hiver et 0,64 mg/m^3 en été pour les « RDébut »).
A noter que la présence de duvet et de petites plumes chez les animaux plus jeunes peut être une hypothèse d'explication de ce résultat. De même, les animaux étant moins bien emplumés sur les lots d'hiver par rapport aux lots d'été, ce qui pourrait expliquer la différence saisonnière observée.

2.6 Facteurs influençant les niveaux d'exposition aux poussières

Les groupes obtenus à partir de la CAH réalisée sur les résultats de l'AFDM sur les variables de l'activité « RDébut » des lots d'hiver, présentent des expositions aux poussières alvéolaires significativement différentes ($p<0,05$). Les autres groupes obtenus à partir des 3 autres CAH, ne sont pas discriminés par des niveaux d'expositions en poussières inhalable ou alvéolaires. Les variables quantitatives et qualitatives permettant de caractériser les 4 groupes obtenus dans cette CAH sont présentées dans les tableaux 2 et 3.
Le groupe 3, se distingue par des expositions aux poussières alvéolaires plus faibles (0,88 mg/m^3, $p< 0,05$). Ces salles sont caractérisées par des logements équipés d'abreuvoirs plus profonds que la moyenne générale. Cela pourrait favoriser le comportement de toilettage des canards et in fine diminuer la volatilité des poussières présentes dans le plumage ou le duvet. Ces salles présentent par ailleurs un volume d'air plus faible, et les systèmes de ventilation cascade y sont très surreprésentés. Nous supposons que ces salles disposent ainsi d'un système de ventilation en place plutôt optimisé par rapport au volume d'air à traiter.
Les groupes 1, 2 et 4 présentent des concentrations en poussières alvéolaires plus importantes que le groupe 3 mais pas significativement différentes entre ces 3 groupes (1,88 mg/m^3 en moyenne pour les 3 groupes confondus). Le groupe 2 est particulièrement caractérisé par une exposition aux poussières alvéolaires plus élevée que la moyenne générale (2,15 mg/m^3). Ce groupe est également caractérisé par « l'absence d'éclairage artificiel » (la nuit mais aussi le jour), ce qui signifie que les lumières ne sont allumées qu'au moment des repas. Cette pratique pourrait augmenter l'agitation des animaux au moment des repas pouvant favoriser la mise en suspension des poussières (changement soudain de conditions lumineuses combiné à l'agitation provoquée par la distribution du repas). D'autre part, les salles du groupe 2 sont équipées préférentiellement de logements de 5-6 places dans lesquels, les canards y sont plus libres de leurs mouvements. Ces facteurs associés (liberté de mouvement et gestion de la lumière) pourraient renforcer la mise en suspension des poussières dans l'air. Enfin, le raclage des déjections dans ces salles était réalisé pour la plupart moins fréquemment que la moyenne générale (raclage tous les 15,4 repas). Or, la présence de déjections favorise les dégagements d'ammoniac, qui peut générer des particules fines par recombinaison avec des gaz acides issus de l'eau de boisson (acide chlorhydrique) et des fèces (Roumeliotis et al., 2009). Il est possible qu'un raclage moins fréquent favorise la création de poussières dans l'air.

CONCLUSION

Cette étude a permis de montrer que certaines activités de travail en production de canards étaient particulièrement exposantes, notamment en début de lot, en comparaison à d'autres activités avicoles. Dans le cadre d'une démarche de prévention des risques professionnels, ce résultat pose la question du public cible. En effet, outre les producteurs eux même, un travail de sensibilisation à la protection individuelle est sans doute à conduire auprès des équipes participant à ces chantiers de déchargement des camions et installation des animaux dans la salle. La perception des risques respiratoires et les comportements de prévention ont fait l'objet d'un travail spécifique dans ce même projet. Les résultats sont présentés dans un article complémentaire (Rousset et al., 2022). Des facteurs de variation de cette exposition ont pu être mis en évidence pour les « distributions des 1ers repas », l'une des activités les plus exposantes. Ainsi, les pistes qui ressortent portent sur le type d'abreuvoirs présents, la gestion de la ventilation, de la lumière et des déjections. Pour le déchargement des canards et leur mise en place dans la salle, aucun aménagement ou équipement testé ne semble influencer le niveau de poussières. D'autres facteurs non évalués dans cette étude pourraient néanmoins avoir un impact, comme le transport des canards. Dans l'état actuel des connaissances, se protéger reste donc plus prudent. Le masque (FFP2 ou 3, norme NF EN 149: 2001) reste un outil indispensable pour se protéger.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre de l'UMT SANIVOL, avec le soutien financier de FranceAgrimer et du CIFOG. Les auteurs remercient l'ensemble des producteurs ayant participé à cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Azizi A., Cadudal F., 2020. TeMA, (55), 12-22
Bénézet, L., Delmas, M.C., Geoffroy-Perez, B., Iwatsubo, Y., 2020. Arch. Mal. Pro. Env. 81 (1), 68-69.
Cambra-Lopez M., Aarnink A.J.A., Zhao Y., Calvet S., Torres A.G., 2010. Env. Pol., 158, 1-17.
Cifog, 2017. Présentation à l'Assemblée Générale du 23 juin 2017, Mont de Marsan
INRS, 2015. In : Prélèvement des aérosols par le dispositif CIP10 –Métropol, pp12
Radon K, Weber C, Iversen M, Danuser B, Pedersen S, Nowak D. 2001. Occup. Env. Med., 58(6),405-10.

Rosemberg N., 2016. Doc. Méd. Trav., 106, 225-238.
Roumeliotis T., Dixon B., Van Heyst B. 2009. Conference paper, Reno, Nevada, June 21 -June 24, 2009.
Rousset N, Battaglia A., 2022. 2022. Quatorzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 9 et 10 mars 2022
Rousset N., Brame C., Ruch M., Galliot P., Cleuziou A-C, Goizin G., Hassouna M., Huneau-Salün A., et Guillam M-T., 2017. TeMa, (43), 21-28.

Tableau 1. Volume des salles et débits d'extraction en fonction des capacités d'accueil

	Fréquence dans la population enquêtée	**Volume**	**Débit d'extraction**
< 600 places	13 %	840 à 1 320 m^3	25 à 125 m^3/h
600 à 1 200 places	55 %	440 et 1 580 m^3	82 et 207 m^3/h
plus de 1 200 places	32 %	1 100 à plus de 2500 m^3	76 à 136 m^3/h

Tableau 1. Expositions aux poussières inhalables et alvéolaires en fonction du type d'activité et de la saison (en mg/m^3, moyenne géométrique (écart-type géométrique))

		MEP	**Rdébut**	**RFin**	**DEP**	**Total des mesures sur le lot**
poussières inhalables	lots d'hiver	7,95 (3,2)	11,71 (2,14)	4,09 (2,13)	3,83 (1,94)	**6,18 (2,63)**
	lots d'été	12,56 (2,62)	3,66 (3,31)	1,41 (3,8)	1,80 (3,34)	**3,29 (4,25)**
	p	*NS*	*< 0,05*	*< 0,05*	*< 0,05*	***< 0,05***
poussières alvéolaires	lots d'hiver	1,14 (3,51)	1,32 (2,00)	0,58 (2,12)	0,72 (2,78)	**0,89 (2,73)**
	lots d'été	1,65 (3,10)	0,64 (3,02)	0,38 (3,87)	0,31 (4,38)	**0,59 (4,08)**
	p	*NS*	*< 0,05*	*NS*	*< 0,05*	***< 0,05***

Tableau 2. Variables quantitatives caractérisant les groupes

	variable quantitative	**Moyenne arithmétique dans le groupe**	**Moyenne arithmétique**	**p**
groupe1	profondeur des abreuvoirs	5,8	8,4	< 0,01
groupe 2	concentration en poussière alvéolaire durant la tâche	2,15	1,59	< 0,05
	fréquence de raclage de la fosse	9,2	15,4	< 0,01
groupe3	profondeur des abreuvoirs	9,8	8,4	< 0,05
	fréquence de raclage de la fosse	19,4	15,4	< 0,05
	volume d'air du bâtiment	817	1 195	< 0,05
	concentration en poussière alvéolaire durant la tâche	0,88	1,59	< 0,01

Tableau 3. Variables qualitatives caractérisant les groupes

	variables qualitatives (« modalité »)	**% d'individus du groupe représentés dans la modalité**	**% d'individus ayant cette modalité dans le groupe**	**% d'individu ayant cette modalité dans la base de données globale**	***p***
	région (« Pays de la Loire »)	55,6	100	29	*< 0,01*
	type de logement (« 4 places »)	45,5	100	35	*< 0,01*
groupe1	mode d'éclairage la nuit : (« autre mode d'éclairage la nuit »)	57,1	80	23	*< 0,05*
	mode d'éclairage le jour : (« autre mode d'éclairage le jour »)	60	60	16	*< 0,01*
	région (« Sud-ouest »)	0	0	71	*< 0,01*
	mode d'éclairage la nuit (« absence d'éclairage artificiel la nuit »)	89	89	29	*< 0,01*
	mode d'éclairage le jour (« absence d'éclairage artificiel le jour »)	62	89	42	*< 0,01*
	type de logement (« 5-6 places »)	58	78	39	*< 0,01*
groupe 2	type d'éclairage (« néons »)	45	100	65	*< 0,01*
	type de logement : (« plus de 6 places »)	0	0	26	*< 0,05*
	mode d'éclairage le jour (« Utilisation de veilleuse le jour »)	8	11	42	*< 0,05*
	mode d'éclairage la nuit (« Utilisation de veilleuse la nuit »)	7	11	48	*0,01*
	type de bâtiment (« autre type »)	71	56	23	*< 0,05*
	type de brassage (« ventilateur en cascade »)	80	44	16	*< 0,05*
groupe 3	région (« sud-ouest »)	41	100	71	*< 0,05*
	région (« Pays-de-la-Loire »)	0	0	29	*< 0,05*
	type de bâtiment (« salle d'engraissement des canards d'origine »)	17	44	77	*< 0,05*
	mode d'éclairage le jour (« Utilisation de veilleuse le jour »)	62	100	42	*< 0,01*
	mode d'éclairage la nuit (« Utilisation de veilleuse la nuit »)	53	100	48	*< 0,01*
	type d'éclairage (« Leds »)	100	50	13	*< 0,01*
groupe 4	région (« sud-ouest »)	36	100	71	*< 0,05*
	mode d'éclairage la nuit (« absence d'éclairage la nuit »)	0	0	29	*< 0,05*
	région (« Pays-de-la-Loire »)	0	0	29	*< 0,05*
	mode d'éclairage le jour (« absence d'éclairage artificiel le jour »)	0	0	42	< 0,01

EXPOSITION AUX PRODUITS BIOCIDES EN ELEVAGES DE VOLAILLES REPRODUCTRICES ET RISQUES POUR LA SANTE DES UTILISATEURS

E. Coularou[a], A. Huneau[a], R. Thomas[a], V. Bellingard[b], J. Lori[b], P. Carpentier[b], N. Rousset[c] et S. Le Bouquin-Leneveu[a]

[a]Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzane Niort, 22440 Ploufragan, France
[b]Anses, Direction de l'Evaluation des Produits Réglementés, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort, France
[c]ITAVI, 41 Rue de Beaucemaine, 22440 Ploufragan, France
sophie.lebouquin-leneveu@anses.fr

RÉSUMÉ

Exposition aux produits biocides en élevages de volailles reproductrices et risques pour la santé des utilisateurs

Les produits biocides sont largement utilisés en élevage où ils contribuent à la santé des animaux et à la qualité sanitaire des produits de consommation. Néanmoins ces produits biocides peuvent présenter un risque pour la santé des utilisateurs. Cette étude avait pour objectif d'évaluer les risques liés à l'utilisation des produits biocides pour la santé des travailleurs dans les élevages de volailles reproductrices. Elle s'inscrit dans le projet aDAPt, en complément de l'enquête qui visait à objectiver ces risques pour la santé des utilisateurs, du couvoir à l'abattoir. Quinze éleveurs volontaires de poules (6), dindes (5) et canards (4) reproducteurs et futurs reproducteurs du nord-ouest de la France ont été recrutés sur proposition des couvoirs. Chaque élevage a fait l'objet d'une visite au cours de laquelle un questionnaire sur la structure de l'élevage et son fonctionnement, les produits biocides utilisés et leurs modalités d'usage étaient complétés. Les connaissances des éleveurs sur ces produits et leur sensibilité au risque ont été recueillies. Cinquante-sept produits ont été recensés, majoritairement des désinfectants (32%) et des produits de traitement de l'eau (28%). Un focus a été réalisé sur les produits désinfectants associant au moins un ammonium quaternaire et un aldéhyde, utilisés dans tous les élevages enquêtés et considérés comme dangereux. Cinq produits biocides de ce type ont été identifiés, une évaluation de risque sanitaire (ERS) a été effectuée sur l'un d'eux. Parmi les tâches les plus exposantes, la désinfection du bâtiment et du matériel au moment du vide sanitaire et la désinfection de la paille sont des étapes critiques. Si pendant la phase de préparation du produit l'exposition estimée est inférieure à la valeur sanitaire de référence son application par pulvérisation représente un risque résiduel jugé important. Ce risque diminue lorsque les équipements de protection individuel (EPI) sont portés. Des différences sont observées entre élevages, liées surtout à la dilution finale du produit ainsi qu'à la durée de la tâche. Bien que ne répondant pas complétement aux requis d'une évaluation réglementaire, cette ERS présente l'avantage d'être basée sur un scénario d'exposition représentant les conditions d'utilisation observées sur le terrain. Ainsi, elle permet d'identifier et d´engager des pistes d'action adaptées aux conditions d'utilisation de terrain afin de limiter les expositions et réduire les risques liés à l'utilisation de produits biocides dans les élevages de volailles reproductrices.

ABSTRACT

Exposure to biocides in breeding poultry farms and health risks for users

The aim of this study is to perform a risk assessment of the use of biocidal products in poultry breeding flocks. The first part consisted in recruiting fifteen breeders and carrying out surveys in poultry farms to collect descriptive data and to to identify the used biocides and their means of use. Because of the large number of products, a choice is made for this report. It will be based on a disinfectant product, which is representative of the biocidal products used in poultry breeding flocks. Indeed, it is used in six out of the fifteen farms. On one hand, hazard characterization of the active substance ADBAC showed that the toxicity is due to local effects which are consequent to its corrosive properties. On the other hand, Glutaraldehyde presents local and also systemic effects. In this context, for Glutaraldehyde, the chronic AEL derived at the European level was used (i.e, 14 µg/kg/day) has been selected to perform the assessment of the systemic risk. For most of disinfection tasks, without personal protection equipments (PPE), these estimated exposures are above the AEL. With PPE, some tasks like disinfection of the building or of the material still present estimated exposure levels above the AEL. Some differences are observed between the flocks, which are due to the product dilution and the task duration. Nevertheless, these results must be interpreted with caution. Indeed, these results are estimations, collected data are declarative, not measured. In addition, value from models are generic data and could be refined. This study is innovative because it uses field data. This work can provide an action plan to reduce the risks associated with biocidal products in breeding poultry farms.

INTRODUCTION

Selon la définition du règlement de l'Union Européenne n°528/2012 du 22 mai 2012, « Les produits biocides sont des substances ou des préparations destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes jugés nuisibles. Ils sont à usages domestiques, professionnels ou industriels. » Les produits biocides sont constitués d'une ou plusieurs substances actives et de co-formulants. Leurs utilisations sont très diverses. Ils sont ainsi retrouvés en agriculture, notamment en élevage où ils contribuent à limiter la circulation des pathogènes, préservant ainsi la santé des animaux mais aussi la sécurité des aliments produits. Les biocides peuvent néanmoins induire des risques pour la santé humaine lors de leur utilisation.

Le projet « Utiliser mieux et moins les produits de Désinfection en filières Avicole et Piscicole » (aDAPt), piloté par l'ITAVI en partenariat avec l'Anses dans le cadre de l'Unité Mixte Technologique Sanivol, ACTALIA, le Lycée Bréhoulou, la CRAB, le CIPA et la SNGTV, a pour but d'évaluer les risques liés à l'exposition des travailleurs aux biocides de type désinfectants dans ces productions animales. Il a pour but de mieux connaître et comprendre les attitudes des utilisateurs de biocides et d'identifier les situations d'utilisation les plus préoccupantes pour la santé humaine et l'environnement. Au cours de ce projet, la filière poulet de chair et palmipède gras ainsi que les élevages de truites en pisciculture ont été enquêtés. La présente étude porte sur les élevages de volailles reproductrices. Elle vise à évaluer les risques pour la santé des travailleurs liés à l'utilisation des produits biocides dans ces élevages. Cette évaluation des risques sanitaire (ERS) consiste dans un premier temps à identifier les dangers des substances actives puis du produit. Certains paramètres nécessaires à la modélisation des expositions sont directement issus d'un relevé des pratiques de terrain, récoltées sous forme d'un questionnaire. Enfin les potentiels risques pour la santé humaine sont caractérisés. A la suite de cette évaluation des risques, des recommandations sont émises.

1. MATERIELS ET METHODES

L'évaluation des risques sanitaires nécessitait des données liées au contexte particulier des élevages de volailles reproductrices. Indisponibles dans la littérature, elles ont été collectées en élevage.

1.1. Collecte des données

Un total de 15 éleveurs de volailles reproductrices et futures reproductrices (poules, dindes et canards) a été recruté dans les régions Bretagne et Pays de la Loire. Tous les éleveurs étaient volontaires pour l'étude. Les visites consistaient en une visite de l'exploitation et en un entretien avec l'éleveur, au cours duquel un questionnaire était soumis. Lors du recrutement, un éleveur a préféré que l'entretien se déroule par téléphone. Le questionnaire comportait 4 parties. La première concernait la compréhension des pratiques et les attitudes vis-à-vis des risques liés aux produits chimiques. Elle comportait ainsi une présentation de l'exploitation et de la personne enquêtée mais également les connaissances et les images des risques associés aux produits chimiques par les travailleurs. La deuxième partie portait sur le zoning de l'établissement qui est une manière de découper un site en zones de travail. Chaque zone dispose des ressources matérielles permettant au travailleur d'effectuer différentes tâches. Une tâche correspond à une opération unitaire réalisée par l'employé et qui peut mettre en œuvre plusieurs produits chimiques. Les troisième et quatrième parties, en lien avec la deuxième, détaillaient les caractéristiques des zones de travail et les tâches en lien avec les produits biocides utilisés. Il était ainsi demandé les fréquences et durées des tâches, les équipements de protection associés à chacune manipulation. Des données liées aux produits biocides utilisés étaient également récoltées.

1.2. Evaluation des risques sanitaires

Les produits biocides utilisés dans les élevages ont été identifiés grâce aux données récoltées lors des visites et du remplissage des questionnaires. La composition des produits avec des concentrations précises ont été obtenues sur le site gouvernemental Simmbad[1]. Dans un deuxième temps, des recherches bibliographiques ont été menées sur ces substances d'intérêt pour identifier des dangers et caractériser des potentiels risques liés à leur utilisation dans un contexte professionnel. Les Fiches de données de Sécurité ainsi que le site public Simmbad ont été utilisés. Les Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR), qui permettent d'établir une relation entre une dose et un effet toxique à seuil, ont ensuite été identifiées par interrogation des bases de données de référence de l'Anses, de la United States Environmental Protection Agency (US EPA) et de l'European Chemical Agency (ECHA).

L'évaluation des expositions s'est appuyée sur le zonage des élevages ayant identifié les principales étapes exposantes. Il s'agissait d'évaluer les expositions de manière indirecte car les mesures d'exposition n'étaient pas possibles. Les données collectées à l'aide du questionnaire ont été associées à des modèles pour quantifier l'exposition des travailleurs. Pour identifier le modèle le plus approprié, le guide méthodologique d'exposition aux

[1] https://simmbad.fr/public/servlet/produitList.html

biocides pour la santé humaine de l'ECHA a été consulté (ECHA, 2015a ; ECHA, 2017) (1)(2). Le modèle « Mixing and loading n°7 » était le plus approprié à la phase de préparation des solutions désinfectantes. Pour la phase de pulvérisation de la solution, le modèle retenu était « Spraying n°2 ». Le type de matériel, similaire dans tous les élevages, a été pris en compte dans le choix de ce modèle. Ces modèles fournissent des valeurs d'exposition cutanée en milligrammes de produit biocide par minute ainsi que des valeurs d'exposition par inhalation en milligrammes de produit biocide par m^3. Le modèle « Spraying n°2 » ne prend pas en compte les équipements de protection et des facteurs correcteurs doivent ensuite être appliqués. En revanche, le modèle « Mixing and loading n°7 » inclus les EPI dans les valeurs d'expositions calculées.

Les expositions cutanées et par inhalation issues des deux modèles ont été additionnées pour obtenir une exposition systémique globale. Celle-ci a ensuite été comparée à la VTR pour réaliser une évaluation des risques quantitative. Cette ERS étant menée dans le cadre professionnel, la VTR utilisée, 14 µg/kg/j, a été dérivée des effets sur la santé sur le long terme. Cette caractérisation du risque a été menée indépendamment pour chaque tâche. L'exposition calculée a été exprimée en pourcentage de la VTR choisie. Un pourcentage supérieur à 100 % correspond à un risque pour la santé dit « inacceptable », en considérant l'effet critique choisi pour la construction de la VTR (ECHA, 2014) (3).

2. RESULTATS

2.1. Elevages enquêtes

Au cours de l'étude, 15 élevages ont été enquêtés. Ces élevages étaient rattachés à différents groupements : Couvoir A (3 élevages de poules), Couvoir B (2 élevages de poules et 5 de dindes), Couvoir C (4 élevages de canards), Couvoir D (1 élevage de poule). Pour chaque espèce, un élevage de futurs reproducteurs a été inclus, soit 3 au total. Au sein des élevages, une ou plusieurs personnes travaillaient, un chef d'exploitation seul ou en couple et/ou leurs employés. Au total 16 répondants ont participé, incluant les salariés d'un élevage. Sur la formation concernant les biocides, 10 des 15 éleveurs interrogés ont déclaré avoir passé le Certiphyto.

2.2. Sensibilité aux risques et pratiques de protection

Lors de l'entretien, il a été demandé aux éleveurs de citer spontanément les risques qu'ils associaient à l'usage des produits chimiques. Les risques respiratoire et cutané revenaient en premier. Une deuxième question concernait les éléments d'appréciation du risque d'un produit chimique. Il est à noter que les pictogrammes sont les plus souvent cités (7/16) puis viennent les connaissances, les étiquettes et les conditions d'utilisation (4/16 chacune). Sept travailleurs ont été confrontés, personnellement, à des problèmes de santé et/ou accidents liés à l'utilisation de produits chimiques.

Un inventaire des équipements à disposition du personnel a été dressé. Les protections cutanées étaient principalement des tabliers ou des combinaisons de travail associés à des gants. Les protections oculaires à disposition dans les élevages étaient des lunettes ou visière (12), un masque intégral avec des cartouches était à disposition dans 3 élevages. La principale motivation pour porter des EPI pour toutes les personnes interrogées était la certitude qu'il existe un risque en manipulant les produits et l'envie de se protéger. Les freins ont été plus difficiles à identifier. Les éleveurs n'en déclaraient pas spontanément lorsque la question était posée mais lors des échanges avec eux, ils reconnaissaient ne pas mettre les équipements de protection pour divers motifs, comme la gêne ou l'inconfort mais également le temps pris à s'équiper.

2.3. Connaissances et attendus sur les produits chimiques

Neuf éleveurs ont jugé qu'ils n'étaient pas suffisamment informés sur les produits chimiques et leurs utilisations. Treize d'entre eux se sont dit intéressés pour avoir plus d'informations à ce sujet. Ils souhaitaient aborder en priorité les modalités d'utilisation des produits, puis les aspects sanitaires (risques, protection) pour 12 d'entre eux et l'efficacité. Concernant le format des formations, les journées de formation étaient jugées intéressantes pour 11/15 répondants. Pour 12 d'entre eux, des fiches didactiques à ramener à l'élevage étaient pertinentes. Enfin 11 personnes étaient favorables à des vidéos à revoir quand ils le souhaitent. Ces différentes sources d'informations ont été considérées comme complémentaires. Concernant les pistes d'action pour réduire les risques liés aux produits biocides, l'action prioritaire pour une majorité des éleveurs, serait de disposer de produits plus respectueux / moins dangereux pour la santé humaine et l'environnement.

2.4. Evaluation des risques sanitaires

Cinquante-sept produits biocides utilisés ont été identifiés lors des enquêtes en élevage. La classe la plus représentée était les désinfectants (32 % des produits recensés), suivis des produits de traitement de l'eau (28 %) et des insecticides (21 %). Le grand

nombre de produits désinfectants rencontrés a nécessité de réaliser un choix sur le produit évalué dans cet article. Le désinfectant présent dans le plus grand nombre d'élevages, 6 sur les 15, a été retenu pour l'ERS.

Le produit, noté X, est un désinfectant possédant deux substances actives, un ammonium quaternaire, l'ADBAC, et le glutaraldéhyde. Pour cette étude, le choix de s'intéresser uniquement aux effets systémiques du glutaraldéhyde (ECHA, 2014 ; Van Miller et al., 2002) a été fait. En effet, compte-tenu de ses propriétés physico-chimiques, l'ADBAC (ECHA, 2015b) n'est pas ou peu absorbé et reste au niveau local lors de l'exposition. Il a des effets corrosifs localement pour la peau et les yeux. Ces risques locaux ont été relevés mais non évalués, l'ERS portant sur les risques sanitaires systémiques.

Les tâches impliquant l'utilisation du produit dans les élevages enquêtés concernaient la désinfection des bâtiments et du matériel, en cours de lot et lors du vide sanitaire, ainsi que la désinfection de la paille. Pour la préparation de la solution, la valeur d'exposition était identique dans tous les élevages (6% de la VTR) et correspondait à un niveau de risque jugé acceptable. Pour l'acte de pulvérisation, l'exposition variait selon la concentration d'utilisation du produit et la durée de la tâche. L'utilisation de désinfectant conduisait à des niveaux d'exposition supérieurs à la valeur sanitaire de référence lorsqu'aucun EPI n'était porté (Figure). Ces niveaux d'exposition diminuaient avec le port des EPI, en incluant le matériel de protection respiratoire adapté. Malgré tout, pour certaines tâches qui durent plus longtemps (désinfection du bâtiment et du matériel lors du vide sanitaire) ou pour certains élevages où les concentrations employées étaient plus élevées, l'exposition estimée reste supérieure à la valeur sanitaire de référence, même en présence de l'ensemble des équipements de protection.

3. DISCUSSION

Malgré un faible nombre d'élevages enquêtés, cette étude permet d'obtenir une première approche des risques liés à l'utilisation des produits biocides en élevage de volailles reproductrices. De par leur position en amont des filières avicoles, les élevages de volailles reproductrices sont particulièrement soumis aux contraintes sanitaires. De fait, les éleveurs manipulent quasi quotidiennement des produits désinfectants, ce qui justifie une action ciblée de prévention des risques sanitaires liés aux biocides dans cette population.

L'évaluation des risques qui a été menée était centrée sur un produit largement utilisé. La valeur choisie pour caractériser le risque lié à la présence de glutaraldéhyde dans ce produit a été construite pour des expositions chroniques ou subchroniques. Or, si certaines tâches réalisées par les éleveurs sont régulières et fréquentes, comme la désinfection du sas ou du matériel, d'autres, telles que la désinfection du bâtiment lors du vide sanitaire sont moins fréquentes. Pour ces tâches, la VTR est donc moins appropriée. Cependant, dans la mesure où le produit est utilisé quasiment quotidiennement dans les élevages, il a semblé approprié de conserver la valeur de référence harmonisée au niveau européen dans le cadre de l'évaluation de la substance active en tant que biocide construite par l'ECHA.

La pulvérisation du produit conduit à des niveaux d'exposition qui dépassent la valeur sanitaire de référence, quelle que soit la tâche, si les équipements de protection préconisés, incluant des protections respiratoires, ne sont pas mis. Les EPI apparaissent comme un rempart efficace, s'ils sont correctement utilisés, pour diminuer l'exposition au produit mais pas suffisants. Le respect des consignes d'utilisation concernant les dilutions est un autre moyen de diminuer les expositions. En effet, les concentrations préconisées étaient rarement respectées par les utilisateurs, quel que soit le produit. Par ailleurs, des différences de risque sont observées entre les tâches. Plus elles prennent du temps, plus l'exposition et le risque sont importants. Elle dépend aussi de l'organisation du travail. Par exemple, un éleveur désinfectait en une seule fois le stock annuel de litière, induisant une exposition très élevée au produit. Au contraire, un éleveur désinfectait chaque semaine une botte de paille, ce qui entraînait une exposition moindre, en deçà de la VTR moyennant le port d'EPI adaptés, malgré une utilisation répétée du produit.

CONCLUSION

Sur la base de cet exemple d'ERS pour un produit désinfectant couramment utilisé, quelques recommandations peuvent être émises. Les conditions de manipulation, pas toujours maitrisées, entraînaient des surexpositions. L'accompagnement pour l'utilisation des produits demeure donc un facteur clé. Des formations initiales et continues réalisées avec les opérateurs permettraient de mieux utiliser les produits et de renforcer l'utilisation des EPI. L'enquête a montré que les éleveurs étaient demandeurs de cet accompagnement. Malgré l'existence de situations de surexposition à risque, l'utilisation des produits biocides est une nécessité afin de garantir la sécurité sanitaire des produits et la bonne santé des animaux. Il s'agit ici de trouver un équilibre à la balance bénéfices-risques pour préserver la santé des animaux et des hommes.

Les auteurs remercient les éleveurs et les opérateurs ayant accepté de participer à l'étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ECHA, 2015a. https://echa.europa.eu/fr/about-us/who-we-are/biocidal-products-committee/working-groups/human-exposure
ECHA, 2017. https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/biocides_guidance_human_health_ra_iii_part_bc_en.pdf/30d53d7d-9723-7db4-357a-ca68739f5094
ECHA, 2014. https://echa.europa.eu/documents/10162/c0251505-924c-08b7-8946-de5ac06d1950
Van Miller JP et al., 2002. Toxicology, 175(1):177-89.
ECHA, 2015b. https://echa.europa.eu/documents/10162/b9030b10-c8af-211b-456a-4f4b11d509b7

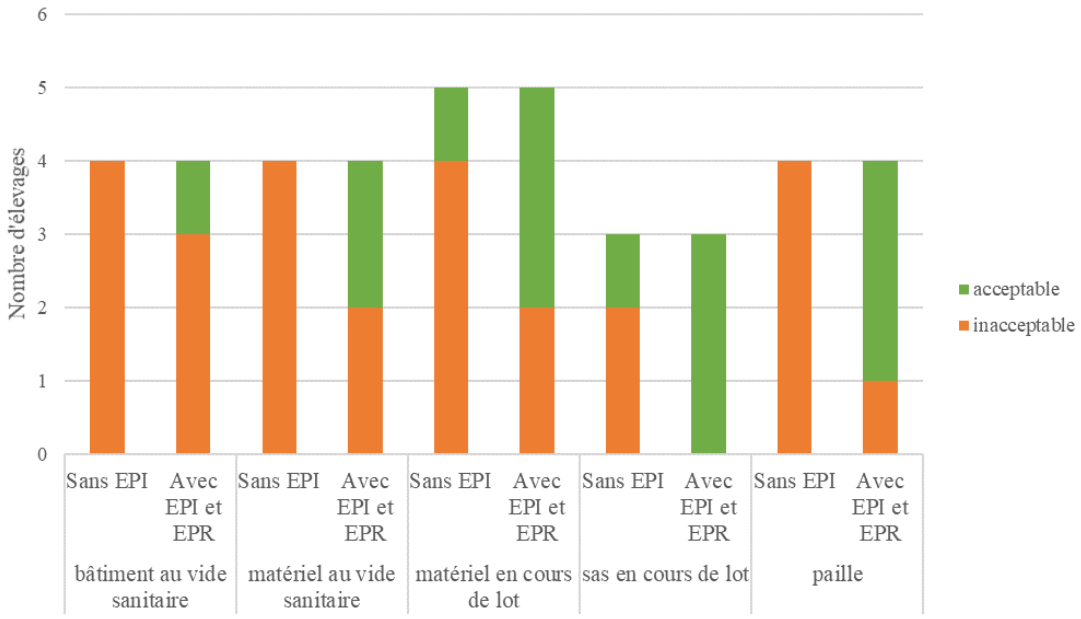


Figure Estimations des niveaux de risque sanitaire en fonction du type d'équipement de protection individuelle porté lors de l'utilisation du produit X pour différentes tâches de désinfection dans six élevages de volailles reproductrices en France. Un niveau de risque jugé inacceptable est associé à une exposition supérieure à la valeur toxicologique de référence retenue pour le glutaraldéhyde. EPI : Equipement Individuel de Protection, EPR : Equipement de Protection Respiratoire. Le total des élevages n'est pas égal à six pour chaque tâche car le produit étudié n'est pas toujours utilisé pour toutes les tâches considérées.

Un projet pour « Utiliser mieux et moins les produits de désinfection en filières Avicole et Piscicole »

Elsa Coularou
Direction des Produits réglementés
Anses
Maisons-Alfort, France

A. Huneau-Salaün[a], R. Thomas[a], V. Bellingard[b], J. Lori[b], P. Carpentier[b], N. Rousset[c], S. Le Bouquin-Leneveu[a]

[a]Anses, Ploufragan, France
[b]Anses, Maisons-Alfort, France
[c]ITAVI, Ploufragan, France

Contact: Sophie.lebouquin-leneveu@anses.fr

EXPOSITION AUX PRODUITS BIOCIDES EN ÉLEVAGES DE VOLAILLES REPRODUCTRICES ET RISQUES POUR LA SANTE DES UTILISATEURS

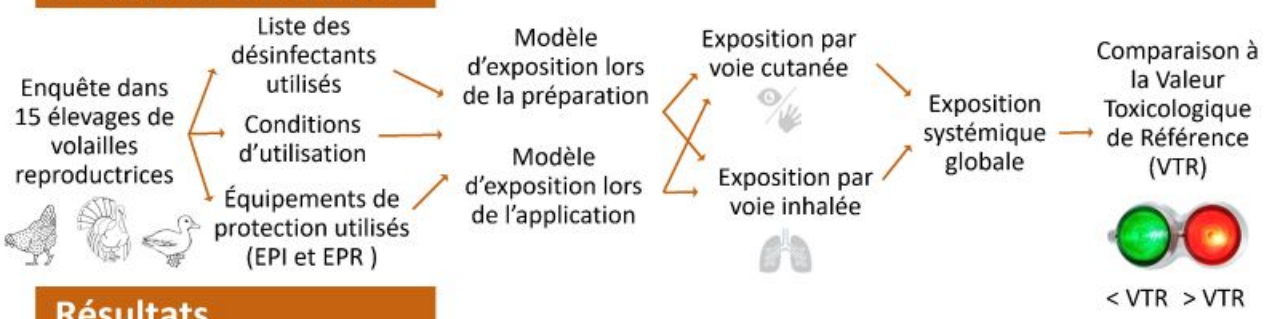
Contexte

Les biocides sont largement utilisés en élevage de volailles reproductrices pour assurer la santé des animaux et la qualité sanitaire des œufs à couver. Néanmoins ces produits peuvent présenter un risque pour la santé des utilisateurs.

Objectif de l'étude

Evaluer les risques pour la santé des travailleurs liés à l'utilisation des produits biocides désinfectants dans les élevages de volailles reproductrices en France

Matériel et méthode



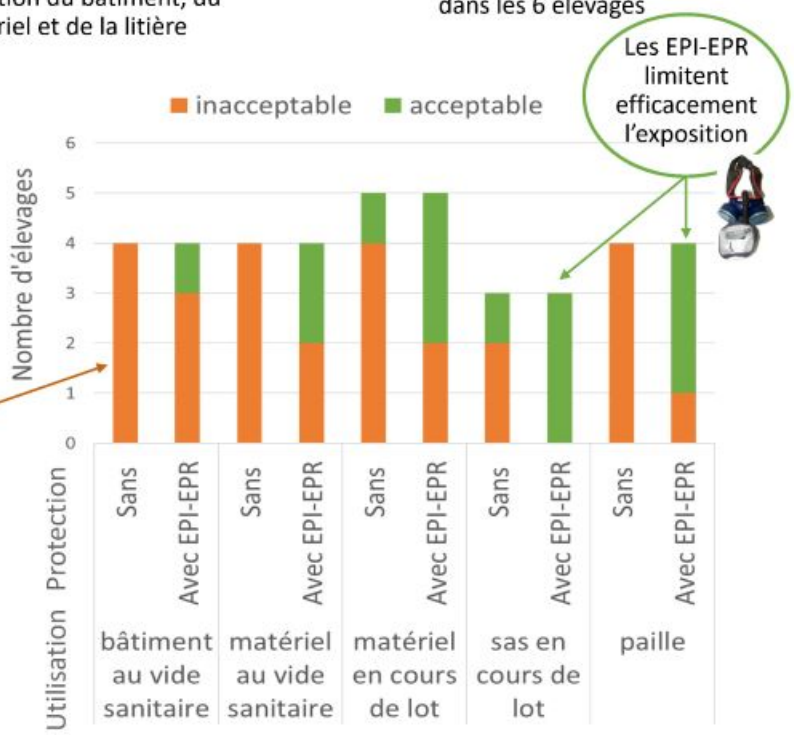
Résultats

18 biocides désinfectants utilisés → *Choix d'un produit d'exemple pour l'étude* → Le produit X est le plus utilisé (6/15 élevages) pour la désinfection du bâtiment, du matériel et de la litière → Evaluation du Risque Sanitaire (ERS) associé à l'utilisation du produit X dans les 6 élevages

Le produit X est à base d'un ammonium quaternaire (ADBAC) et de glutaraldéhyde

- Pas de risque systémique identifié pour l'ADBAC. Pas d'ERS
- Glutaraldéhyde VTR utilisée = 14 µg/kg/j

Les surdosages entraînent des expositions élevées



Estimations des niveaux de risque sanitaire lié à l'exposition au glutaraldéhyde lors de l'utilisation du produit X.
Une exposition supérieure à la VTR est jugée inacceptable.

Perspectives

Sur la base de cet exemple pour un désinfectant couramment utilisé, on constate que les conditions de manipulation, pas toujours maitrisées, entraînent des surexpositions. L'accompagnement pour l'utilisation des produits demeure donc un facteur clé. Des formations initiales et continues réalisées avec les opérateurs permettraient de mieux utiliser les produits et de renforcer l'utilisation des EPI.

Financeurs

AVEC LA CONTRIBUTION FINANCIÈRE DU COMPTE D'AFFECTATION SPÉCIALE DÉVELOPPEMENT AGRICOLE ET RURAL

Partenaires

PERCEPTION DES RISQUES RESPIRATOIRES PAR LES PRODUCTEURS DE CANARDS EN ENGRAISSEMENT ET COMPORTEMENT DE PREVENTION MIS EN ŒUVRE

Rousset Nathalie[1], Battaglia Antoine[1]

[1]ITAVI, 41 rue de Beaucemaine, 22440 Ploufragan France

rousset@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Depuis la mise aux normes du mode d'hébergement des canards en engraissement, les troubles respiratoires représentent une source d'inquiétude croissante pour les producteurs de canards. Le projet AGAtE visait à contribuer à la prévention de ces risques pour cette filière. Afin de cibler les informations messages et d'adapter les supports, une des étapes de cette étude consistait à mieux comprendre la perception des risques par les producteurs de canards, et les liens de celle-ci avec l'observance d'équipements de protection. Une enquête qualitative a été conduite auprès de 14 producteurs de canards en régions Nouvelle Aquitaine et Pays-de-la-Loire. Les thèmes abordés dans le guide d'entretien étaient : la perception du métier de producteur, la perception de la santé et des risques au travail en particulier liés à la qualité de l'air, les pratiques de prévention, les moyens de protection mis en œuvre et leur perception. Une analyse de discours a été réalisée thème par thème puis une typologie de logiques de pensées communes a été établie. Les risques respiratoires sont assez bien identifiés dans cette population, de part le caractère visible des poussières, les gènes respiratoires ou oculaires occasionnées (« brouillard de poussières »), les discussions avec les proches ou les pairs ayant eu des symptômes ou des maladies. Le port d'un masque de protection est un comportement assez régulièrement observé. Malgré cela, de nombreuses stratégies de relativisation des risques ont été relevées, justifiant une moindre observance des masques. Les vidéos de témoignages, intégrant également des données d'objectivation des expositions ont été développés afin d'avancer sur la prévention.

ABSTRACT Perception of human health risks related to air quality and preventive behaviours in duck fattening systems

Respiratory diseases have been a growing concern for duck producers since the modifications of duck overfeeding system, due to welfare regulation. The AGAtE project aimed to contribute to the prevention of these risks for this sector. In order to target messages and adapt materials, one of the steps was to better understand the perception of risks by duck producers, and the links between this perception and compliance with protective equipment. 14 duck producers were interviewed in the Nouvelle Aquitaine and Pays-de-la-Loire regions. The interview's guidelines addressed the perception of the producer's job, the perception of health and risks at work, in particular those related to air quality, prevention practices, the means of protection used and their perception. A discourse analysis was carried out theme by theme and a typology of common thinking was established. Respiratory risks are fairly well identified in this population, due to the visible nature of the dust, the respiratory or ocular discomfort caused ("dust mist"), and discussions with family, friends or peers who have experienced symptoms or illnesses. Wearing a protective mask is a regular behavior. In spite of this, many strategies of relativization of the risks were noted, justifying a lesser mask compliance. Video testimonies, including objective data on exposure, have been developed in order to make progress in term of prevention.

CONTEXTE ET INTRODUCTION

En France, les symptômes respiratoires tels que l'asthme, la toux ou expectorations chroniques ne sont pas rares (Bénézetet al., 2020 ; Rosemberg, 2016). L'air ambiant des bâtiments d'élevage est en effet constitué de diverses particules (résidus de litière, d'aliments, de plumes, de fientes), elles-mêmes vectrices de bio-contaminants (virus, bactéries, endotoxines), et de gaz (ammoniac, dioxyde de carbone, monoxyde de carbone) (Cambra-Lopez et al., 2010 ; Radon et al., 2002).
Préserver la santé des agriculteurs, ou même tout simplement, garantir le bien-être au travail constitue aujourd'hui un enjeu majeur de la durabilité de ces filières de production. Or, la mise en place de démarches de prévention efficace nécessitent certes de bien connaître les risques mais également la manière dont les personnes exposées se les représentent. En effet, la perception du risque par une personne dépend de sa connaissance sur le sujet (données objectives sur les niveaux d'exposition, la fréquence et gravité des symptômes ou maladies potentiellement engendrées), mais aussi d'autres facteurs plus subjectifs, comme le caractère volontaire ou non de l'exposition, le niveau d'incertitude sur le risque, le nombre de personnes concernées, et également le vécu (être ou connaître une victime, ressentir des symptômes en l'absence de protection, découvrir lors d'un changement de pratiques, une amélioration de son état de santé…) (Joly et Barbier, 2001 ; Nicourt et Girault 2010). Les formes de déni ou de relativisation peuvent être nombreuses malgré les études scientifiques disponibles : « ça ne concerne pas mon poste / pas mon élevage », « je suis issu du milieu agricole donc plus résistant » ...
La filière canards gras en France, implique environ 5 000 producteurs (Cifog 2017). Les troubles respiratoires restent peu étudiés pour les ateliers d'engraissement des canards alors même qu'ils représentent une source d'inquiétude croissante pour les professionnels de ce secteur d'activité. En effet, depuis la mise aux normes du mode d'hébergement, la combinaison d'un air plus sec et d'une plus grande liberté de mouvements pour les canards, pourraient favoriser une exposition accrue aux poussières.
Le projet AGAtE 2018-2020 avait pour ambition de contribuer aux démarches de prévention de ces risques respiratoires pour cette filière.
Afin de cibler l'information et d'adapter les supports de dissémination et de communication, une des étapes consistait à mieux comprendre la perception des risques perçus par les producteurs de canards, et les liens de celle-ci avec la mise en œuvre au quotidien de moyens de prévention et de protection.

1. METHODES

1.1 Population enquêtée

Quatorze producteurs de canards en engraissement volontaires ont participé à cette enquête. Ils faisaient partie de la cohorte totalisant 31 producteurs du projet AGAtE, qui a participé à l'étude visant à caractériser les niveaux d'expositions aux poussières et leurs facteurs de variation (Rousset et al., 2022). La population cible de cette cohorte était les producteurs spécialisés dans l'engraissement de canards, avec des bâtiments fermés de 600 places minimum. Etaient exclus du projet, les bâtiments semi-ouverts et les salles équipées de fosses sous les cages, ainsi que les producteurs ayant également une activité d'élevage. Environ 2/3 des producteurs de la cohorte du projet AGAtE sont situés en région Nouvelle Aquitaine, le reste en Pays-de-la-Loire. 84 % des salles sont équipées de gaine pour le brassage de l'air, le reste de ventilateurs en cascade. Les proportions de ces deux derniers critères (région et type de brassage) ont été conservées comme critère de recrutement pour cette enquête sur la perception des risques respiratoire et les comportements de prévention.
Ainsi l'échantillon de 14 producteurs de canards en engraissement est composé en majorité d'hommes (13/14), et issus du milieu agricole (11/14), c'est-à-dire ruraux avec des parents ou des membres de la famille agriculteurs. La plupart des producteurs (8/14) sont titulaires au minimum d'un Baccalauréat général ou d'un équivalent de l'enseignement agricole. Beaucoup d'entre eux (9/14) ont déjà eu des problèmes de santé liés à leur activité professionnelles mais en majorité il s'agit de troubles musculo-squelettiques et des problèmes respiratoires pour quelques-uns.
La moyenne d'âge est de 50 ans, avec cependant des écarts importants entre les plus jeunes et les plus âgés (de 30 à 57 ans) et entre région d'origine (4 des éleveurs situés en Nouvelle Aquitaine ont plus de 50 ans vs aucun en Pays-de-la-Loire) (tableau 1). Le nombre d'années d'expérience dans la production de canards est de 16 ans en moyenne, mais également très hétérogène (de 2 à 35 ans d'expérience). Ces différents niveaux d'expérience sont toutefois répartis équitablement entre les deux régions d'où sont originaires les producteurs de cette enquête (tableau 2).

1.2 Données collectées

Des entretiens semi-directifs ont été conduits entre novembre et décembre 2018, avec chaque producteur, en amont des campagnes de mesurage permettant de caractériser les niveaux d'expositions aux poussières (Rousset et al., 2022). Cette méthode d'entretien vise à favoriser l'expression spontanée et libre de la personne interrogée. L'enquêté a listé à l'avance les thèmes mais ceux-ci

peuvent être abordés dans un ordre différents de celui prévu initialement en fonction selon la personne interviewée.
Pour ce faire, un guide d'entretien avec des questions ouvertes et des relances a été construit autour de 3 thèmes principaux :

- La perception du métier de producteur,
- La perception de la santé et des risques au travail en particulier liés à la qualité de l'air
- Les pratiques de prévention, les moyens de protection mis en œuvre et leur perception

1.3 Analyse des discours recueillis

Le contenu de chaque entretien a tout d'abord été analysé thème par thème, afin d'identifier la diversité ou au contraire l'homogénéité des discours. Dans un second temps, une analyse typologique a été réalisée, elle permet de mettre en évidence des profils de producteurs ayant des logiques de pensée commune (Kling-Eveillard et al, 2012).

2. RESULTATS

2.1 Des risques respiratoires liés aux poussières bien identifié

Les risques respiratoires liés aux expositions aux poussières est largement cité par les producteurs (13/14). Le caractère visible des poussières est certainement un facteur prépondérant de prise de conscience de ce risque *« Les premiers jours, c'est impressionnant, on voit un brouillard* », *« le dépôt de poussière sur les équipements »*. D'autres parlent également de gêne respiratoire ressentie lors de leur activité « *Quand je gave, la poussière prend vite les poumons* ». Quelques producteurs (5/14) indiquent avoir été sensibilisés par des proches ou des pairs tombés malades « *Il y en a qui ont eu des problèmes de bronches »*. Dans une enquête similaire conduite auprès d'éleveurs de poulets de chair, Ruch et al. (2018) décrit de manière similaire ces facteurs de prise de conscience du risque : maladie vécue personnellement ou par un proche, gène ou symptômes consécutive à une exposition, danger très visible. Très peu de producteurs ont indiqué en avoir discuté avec des techniciens ou autres conseillers, ou encore s'être renseigné de façon active sur le sujet (recherche sur internet)

2.2 Mais des stratégies de relativisation des risques

Si le risque de développer une pathologie respiratoire est jugé important par la plupart des producteurs (11/14) « *on ne se rend pas compte du risque, la poussière c'est anodin, mais sur le long terme ça peut provoquer de graves problèmes* », des stratégies de relativisation des risques ont été relevé. De la même manière que Ruch et al. (2018), on peut distinguer d'un côté des arguments de minimisation des risques :

- **Absence d'exposition (ou faible exposition) sur l'exploitation**. La qualité de l'air est décrite par certains producteurs comme étant *« plutôt bonne pour les animaux » du fait du* pilotage automatisé des équipements de ventilation, le comportement *« normal »* de leurs canards, qui sont « bien », *« en bonne santé »*, *« ne sont pas gênés »,* les bonnes performances technico-économiques de leur atelier, et donc par voie de conséquence ils considèrent qu'elle est aussi « *bonne pour eux »*. Par ailleurs, quelques-uns comparent la qualité de l'air dans les salles d'engraissement à celle des bâtiments « volailles de chair » qu'ils possèdent ou ont pu visiter, et qui leur parait beaucoup plus exposante.
- **Pathologies « pas si fréquentes » au sein de la profession** « *C'est vrai, la poussière peut causer des problèmes de santé mais ce n'est pas courant* », ou « pas si grave »
- **Pathologies qui se développent sur le long terme, suite à des expositions prolongées**. Cela peut sans doute expliquer que certains d'entre eux se sentent moins immédiatement concernés,

Par ailleurs, on retrouve également des arguments justifiant la situation existante :

- **Absence de solutions techniques qui pourrait permettre de prévenir ces risques** : « *Je ne vois pas ce qu'on pourrait faire de plus sans nuire aux performances, on fait déjà le maximum. »*
- **Scepticisme sur l'acceptabilité sociétale de solutions** qui pourrait permettre de réduire les expositions (ex du lavage des canards).
- **Gestion des situations qui semblent les plus à risque mais « tant pis pour le reste »** : *« A la mise en place, on essaye de travailler intelligemment, je ne mets pas mal d'extraction et on débute dans le fond de la salle donc on est toujours du bon côté de l'air sain. »*

2.3 Des équipements de protection plutôt bien portés

Malgré les arguments qui tendent à relativiser l'importance des risques respiratoires ou des expositions, la majorité des producteurs enquêtés déclarent se protéger avec des masques équipés de filtres anti-poussières (11/14), ce qui est beaucoup plus fréquent que ce qui avait été relevé chez les éleveurs de poulets de chair (Ruch et al., 2018). La suppression de gènes ou symptômes respiratoires est la motivation principale *« L'hiver dernier je sortais complétement malade de gavage, c'est pour ça que j'ai acheté un masque »*.
Tous ne portent cependant pas le masque tout au long du lot. Ainsi, une partie d'entre eux, notamment les plus jeunes (4/11) indiquent ne porter le masque uniquement lors des 4 à 5 jours qui suivent la mise en place des canards dans la

salle. On retrouve ici un argument de justification de cette pratique de protection partielle, de type « je gère la situation qui me semble le plus à risque, tant pis pour le reste ».

Chez les producteurs qui ne portent pas de masque, on retrouve des arguments de minimisation, portant ici sur l'importance de se protéger. Ainsi certains d'entre eux vont arguer que les masques sont utiles pour les personnes ayant une santé fragile *« Ceux qui portent des masques ont déjà eu des problèmes de santé », « j'ai porté un masque quand j'ai eu des problèmes respiratoires ».* Néanmoins, contrairement aux éleveurs de volailles de chair (Ruch et al., 2018), ils ne semblent pas remettre en cause l'efficacité de ces équipements de protection.

A nouveau, malgré ces arguments qui relativisent l'importance du port d'équipement de protection individuelle, une majorité de producteurs (11/14) souligne que le port du masque devrait se normaliser dès le début de carrière, sans attendre les problèmes de santé (y compris certains producteurs ne portant pas d'EPI au quotidien) *« On ne peut pas dire de ne pas porter de masque, pour nous c'est foutu mais pas pour les jeunes », « mieux vaut commencer avec les bonnes habitudes », « lorsqu'on a des problèmes de poumons, c'est trop tard ».*

2.4 Analyse typologique

Quatre groupes de producteurs ayant des logiques de pensées similaires, ont pu être identifiés (figure 1).

Les 7 producteurs qui minimisent l'exposition aux poussières sur leur exploitation *« je fais tout pour que la qualité de l'air soit bonne pour mes animaux, ils sont bien et j'ai de bonnes performances, donc la qualité de l'air doit être bonne pour moi »*, peuvent être divisés en deux sous-groupes :

1. *« Je ne suis pas si exposé, je ne me protège donc pas ou je gère seulement les situations qui me semblent les plus à risque et « tant pis pour le reste » »* (4 producteurs)

Pour ces personnes, les stratégies de relativisation du risque sont très présentes et les inconvénients (inconfort, coût…) du port du masque l'emportent sur les motivations à se protéger au quotidien. Il s'agit principalement de personnes plus âgées et ayant moins d'années d'expérience dans la production de canards (moins de 5 ans généralement). Il est intéressant de noter que la plupart d'entre eux préconiserait le port d'un masque à un jeune qui s'installerait : *« il vaut mieux commencer avec les bonnes habitudes », « lorsqu'on a des problèmes de poumons, c'est trop tard ».*

2. *« Même si je ne suis pas si exposé que cela, je me protège pour préserver ma santé »* (3 producteurs)

Malgré certains arguments de minimisation des risques liés aux poussières, ces personnes sont très fortement sensibilisées à la prévention de la santé, « rester en forme » est enjeu fort de la santé au travail pour eux. Par conséquent, ce sont des personnes qui se protègent avec un masque au quotidien. Comme le premier groupe, ce sont des personnes de 50 ans environ et plus, mais qui ont beaucoup plus d'années d'expérience en production de canards (plus de 20 ans d'expérience voir plus de 10 ans d'expérience). La plupart ont déjà eu des problèmes de santé liés à leur activité (TMS) ce qui a peut-être concouru à les sensibiliser sur l'impact du travail sur leur santé.

Les 7 autres producteurs qui ne tiennent pas de discours de minimisation de l'exposition aux poussières sur leur exploitation, ni sur la fréquence ou la gravité des pathologies respiratoires, peuvent également être divisés en deux sous-groupes :

3. *« Je sais que je suis exposé, et que cela peut avoir des conséquences sur le long terme, mais, mais le port du masque est trop contraignant, je ne me protège donc pas ou je gère seulement les situations qui me semblent les plus à risque et « tant pis pour le reste »je gère seulement les situations qui me semblent les plus à risque et « tant pis pour le reste » »* (3 producteurs)

Ces personnes ne se sentent pas immédiatement concernées par d'éventuelles pathologies qui se développent sur le long terme. Ils sont conscients que leur activité professionnelle peut présenter des risques, car ils ont déjà eu des problèmes de santé (TMS). La préservation de leur santé « rester en forme » est comme pour le 2nd groupe un enjeu important pour eux, mais les problèmes respiratoires leur paraissent plus lointains, moins palpables. L'inconfort immédiat lié au port du masque (chaleur, débit d'air freiné…) l'emporte donc. Il s'agit de personnes globalement plus jeunes avec peu d'années d'expérience la plupart du temps (moins de 5 ans). Comme le 1er groupe, on peut noter que la plupart d'entre eux préconiserait tout de même le port d'un masque à un jeune qui s'installerait.

4. *« Je sais que je suis exposé, et que cela peut avoir des conséquences sur le long terme, donc je me protège pour préserver ma santé »* (4 producteurs)

Ces personnes sont conscientes que leur activité professionnelle peut présenter des risques, car ils ont déjà eu des problèmes de santé (TMS ou respiratoires). Ils se protègent tous au quotidien avec pour principale motivation de préserver leur santé. Ils préconiseraient également tous le port d'un masque à un jeune qui s'installerait. *« On ne peut pas dire de ne pas porter un masque. Pour nous, c'est foutu, mais pas pour les jeunes ! ».*

Il s'agit de personnes plutôt âgées, et surtout très expérimentées (plus de 20 ans d'expérience).

CONCLUSION

D'une manière générale, l'exposition aux poussières et les risques respiratoires semblent

plutôt reconnus par les producteurs de canards gras, même si des stratégies de relativisation des risques ont été identifiées. Le port du masque semble constituer une norme professionnelle plus forte qu'en élevage de volailles de chair.

Le fait d'être concerné personnellement par des problèmes de santé en lien avec l'activité de production de canards (que cela soit des problèmes respiratoires ou non), et les années d'expérience dans le métier, semblent des facteurs favorisant l'observance des masques au quotidien (groupe 2 et 4). Les producteurs moins expérimentés ont peut-être moins eu le temps d'être influencés par leurs pairs, et le fait de ne pas avoir connu de problèmes de santé rendent sans doute les conséquences du non-port du masque, moins palpables. L'inconfort du masque l'emporte donc sur les avantages apparents.

Afin de renforcer la prévention des risques respiratoires, une vidéo a été créée dans le cadre du projet AGAtE, regroupant des témoignages d'éleveurs pour mobiliser l'influence des pairs. Ces vidéos comprenaient également des résultats d'expositions aux poussières mesurées en conditions réelles de travail, afin de lutter contre la minimisation des expositions aux poussières. Pour aller plus loin dans les actions de prévention, le technicien pourrait également être vecteur d'information lors de l'accompagnement à l'installation des futurs producteurs.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre de l'UMT SANIVOL, avec le soutien financier de FranceAgrimer et du CIFOG. Les auteurs remercient l'ensemble des producteurs ayant participé à cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bénézet, L., Delmas, M.C., Geoffroy-Perez, B., Iwatsubo, Y., 2020. Arch. Mal. Pro. Env. 81 (1), 68-69.
Cambra-Lopez M., Aarnink A.J.A., Zhao Y., Calvet S., Torres A.G., 2010. Env. Pol., 158, 1-17.
Cifog, 2017. Présentation à l'Assemblée Générale du 23 juin 2017, Mont de Marsan.
Joly P.B., Barbier M. 2001. In: Crises et risques collectifs : quels enseignements pour les acteurs de l'agro-alimentaire ? Rapport Demeter, pp62.
Kling-Eveillard F., Frappat B., Couzy C., Dockès A-C., 2012. In: Les enquêtes qualitatives en agriculture. De la conception à L'analyse des résultats. Institut de l'élevage (Idele edit) pp 95.
Nicourt C., Girault J.M. 2010. Actes du colloque « La Réduction des Pesticides : Enjeux, Modalités et Conséquences », pp12.
Radon K, Weber C, Iversen M, Danuser B, Pedersen S, Nowak D. 2001. Occup. Env. Med., 58(6),405-10.
Rosemberg N., 2016. Doc. Méd. Trav., 106, 225-238.
Rousset, N., Brohan, G., Vanhoye, A., Boizumeau, N., Delaqueze, C., Bouillaud, D., Litt, J., 2022. Quatorzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 9 et 10 mars 2022
Ruch, M., Depoudent, C., Philibert, A., Rousset, N., 2018. TeMa, 45, 17-23.

Figure 1. Typologie des attitudes vis-à-vis des risques liés aux poussières et conséquences sur les comportements de protection.

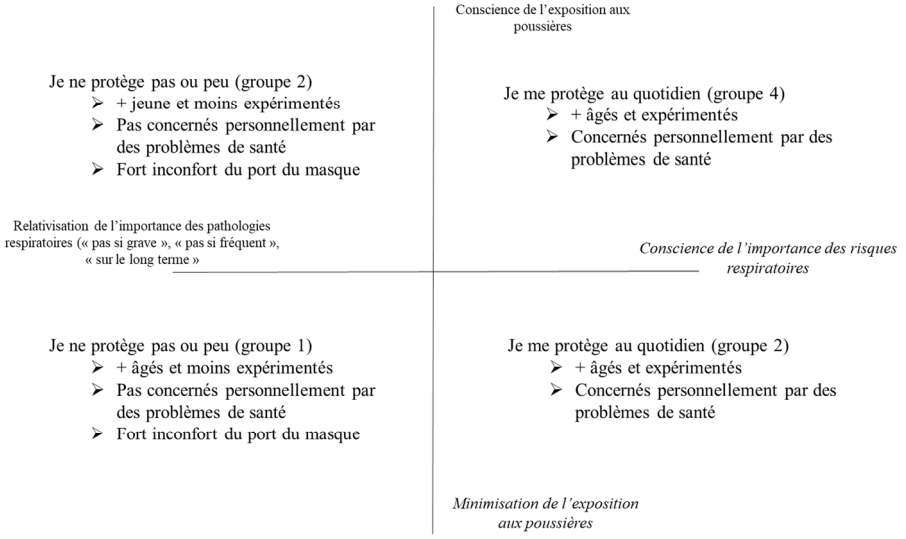


Tableau 1. Réparation des producteurs de canards interviewés en fonction de leur tranche d'âge et de leur région d'origine.

	Pays de la Loire	Nouvelle Aquitaine	Total
30 à 40 ans	1	3	4
plus de 40 ans à 50 ans	3	3	6
plus de 50 ans	0	4	4

Tableau 2. Réparation des producteurs de canards interviewés en fonction de leur nombre d'année d'expérience et de leur région d'origine.

	Pays de la Loire	Nouvelle Aquitaine	Total
5 ans ou moins	1	3	4
plus de 5 ans à 20 ans	1	3	4
plus de 20 ans	2	4	6

CREATION D'UN JEU SERIEUX POUR SENSIBILISER AUX SERVICES RENDUS PAR LES PARCOURS AVICOLES PLEIN-AIR

Pertusa Marion[1], Falcon Valentin[1], Lesgourgues Marie[1], Méda Bertrand[2], Bouvarel Isabelle[3], Liagre Fabien[4], Guillet Philippe[5], Chiron Geoffrey[6], Fortun-Lamothe Laurence[7]

[1]ITAVI - Agrocampus, 1003 Allée Jean D'Arcet - 40280 HAUT-MAUCO
[2]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 NOUZILLY
[3]ITAVI - L'Orfrasière - 37380 NOUZILLY
[4]AGROOF SCOP - 19 Rue du Luxembourg - 30140 ANDUZE
[5]CA PAYS DE LA LOIRE - 15 Rue Jean Grémillon - 72013 LE MANS
[6]ITAVI - 23 Rue Jean Baldassini - 69364 LYON
[7]INRAE UMR GenPhySE - Université de Toulouse - INPT - 31320 CASTANET-TOLOSAN

pertusa@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Les choix d'aménagement et de gestion du parcours, composante essentielle des ateliers avicoles plein-air, ont des répercussions sur les services générés par ces systèmes de production, aux plans économiques, sociaux, environnementaux ou encore territoriaux, comme définis dans le cadre du Casdar Bouquet (Chiron *et al.*, JRA 2019). Aussi, pour sensibiliser les éleveurs, les acteurs de terrain et les étudiants à la multifonctionnalité du parcours et à sa gestion technique, le jeu sérieux est apparu comme un outil pertinent. Il a été développé en trois étapes : la définition des contraintes d'utilisation et du modèle référentiel (représentation graphique des données du jeu et des relations existantes entre elles), la construction des mécaniques ludiques ainsi que leurs mises à l'épreuve auprès des publics cibles. Ce jeu de plateau, nommé « Bouquet », consiste à aménager un parcours de volailles de façon collaborative afin de générer des services diversifiés, tout en considérant des contraintes techniques et des ressources limitées (temps, argent). Testé auprès de groupes d'éleveurs et d'étudiants, l'approche ludique du jeu s'est révélée efficace pour appréhender plus concrètement la notion de services rendus par le parcours de volailles et offre un support pédagogique et d'échange d'expériences et de points de vues, pertinents. Déjà développé sur d'autres thématiques agricoles, le jeu sérieux représente un moyen original et utile pour sensibiliser les acteurs, en les impliquant via une mise en situation réaliste. Le but est aujourd'hui de diffuser cet outil pour sensibiliser à l'aménagement des parcours.

ABSTRACT
Creation of a serious game to raise awareness about services provided by outdoor runs of free-range poultry

Choices made when developing and managing an outdoor run, an essential component of free-range poultry production, influence the services provided by these production systems, on economic, social, environmental and territorial levels, as defined in the Casdar Bouquet project (Chiron *et al*., JRA 2019). To raise awareness among farmers, advisors and students about the multifunctionality of outdoor runs and their technical management, a serious game appeared to be a relevant tool. It was developed in three steps: defining constraints of use and of the reference model (graphic representation of game data and relationships between them), constructing the game mechanics and testing with the target audience. A board game, called "Bouquet", was thus produced. Its goal is to develop an outdoor run for poultry in a collaborative way in order to generate diversified services, while considering technical constraints and limited resources (time, money). Tested with groups of farmers and students, the game's playful approach is effective for understanding the concept of services provided by an outdoor run in a more concrete way and offers a constructive medium for exchanging experiences and viewpoints about the subject. Already developed for other agricultural themes, serious games represent an original and useful way to raise awareness among stakeholders by involving them in a virtual project. The next step is to disseminate the game so that it can be used as an awareness-raising tool for the development of outdoor runs.

INTRODUCTION

En agriculture, le développement et l'utilisation de jeux sérieux est en constante augmentation pour accompagner des transitions, notamment vers des systèmes agro-écologiques (ex. Lauracle, le Rami Fourrager®, Ruralis®, Mission Ecophyt'eau®) (Thenard *et al.*, 2018 ; Martin *et al.*, 2011 ; Gross, 2017 ; Dumas et Vromandt, 2012). Le jeu sérieux représente en effet à la fois un moyen d'acquisition de connaissances, mais aussi une aide à l'évolution de points de vue et/ou de postures.
Les joueurs/apprenants ont généralement à concevoir des solutions, mettre en place des actions, gérer des ressources limitées, pour répondre à un même enjeu. Le jeu s'impose alors comme un support de partage de connaissances, d'expériences et *a fortiori* de changement. Il trouve son utilité dans les démarches d'accompagnement, d'enseignement ou encore de médiation (Dernat, 2021).

En filière avicole plein-air, le développement d'un jeu sérieux est apparu comme un outil pertinent pour sensibiliser à la question spécifique des services rendus par le parcours. En effet, l'aménagement d'un parcours de volailles comprend des choix d'implantation et/ou de gestion décidés au regard de contraintes et objectifs propres à l'éleveur, de motivations économiques, techniques ou encore sociétales. En fonction des choix d'aménagement, des services sont générés. Les bénéficiaires peuvent être l'éleveur lui-même, les animaux, le consommateur et plus globalement, la société (Dupraz et Liagre, 2019 ; Béral, Guillet et Brun, 2014 ; Chiron *et al.*, 2019 ; Méda *et al.*, 2019).
Selon l'approche proposée par Chiron *et al.* (2019), la multifonctionnalité du parcours de volailles est évaluée au travers de cinq catégories de services : la production de ressources et de valeurs, l'intégration au territoire, la qualité environnementale, les relations entre l'élevage, les consommateurs et citoyens ainsi que par la qualité de vie de l'éleveur.

L'objectif de ce travail était donc de développer un jeu sérieux permettant aux joueurs de mieux appréhender les concepts sous-jacents à la notion de « services rendus » par les parcours en y considérant à la fois les contributions possibles générées par l'aménagement du parcours, mais aussi les exigences techniques associées.

1. MATERIELS ET METHODES

Ce jeu sérieux a été construit en plusieurs étapes. La définition du cadre d'utilisation et du modèle de référence ont permis à la fois d'établir les contraintes de développement du jeu et de construire les mécaniques permettant de définir les règles ainsi que les conditions de succès (points).

1.1. Le cadre d'utilisation

1.1.1. Les objectifs pédagogiques

Question centrale du développement, les objectifs pédagogiques déterminent ce que les joueurs devront avoir retenu à la fin de la partie. Ils ont été codéfinis par un groupe d'acteurs concernés, dont des chercheurs, conseillers, éleveurs et enseignants, dans les domaines des productions avicoles et de l'agroforesterie. Ainsi, il a été définit qu'à l'issue de la session de jeu, les utilisateurs devront être capables :
- De connaitre les différentes catégories de services pouvant être rendues par un parcours ;
- D'identifier les principales contraintes techniques à considérer dans un projet d'aménagement de parcours.

1.1.2. Le contexte d'utilisation

Le cadre d'utilisation du jeu a été fixé pour servir, dans le cadre de formations, d'ateliers techniques ou de découverte, comme d'un outil d'initiation à la thématique de l'aménagement du parcours. Ainsi, il s'adresse prioritairement aux éleveurs de volailles en systèmes de production plein-air (volailles de chair, pondeuses, palmipèdes à foie gras) ainsi qu'aux étudiants en cursus agricole. Il pourra aussi être adapté pour des techniciens ou conseillers avicoles. La durée du jeu a été fixée à 1h30, comprenant environ 15 minutes d'explication des règles et une phase de débriefing final. Celle-ci peut s'avérer très utile pour capitaliser sur les apports du jeu, dans une perspective plus concrète de création d'un projet d'aménagement de parcours et/ou d'acquisition de connaissances sur le sujet. De ce fait, la présence d'un animateur, assurant l'explication des règles et la gestion du temps de débriefing, est nécessaire.

1.1.3. Les modalités de jeu

Pour encourager les échanges et favoriser les apprentissages dans le contexte d'utilisation ciblé, l'utilisation d'un jeu coopératif, se plaçant du point de vue de l'éleveur, a été jugé comme le format le plus adapté. Une équipe de 4 personnes (±1), considérées comme associées d'un GAEC, pourront alors prendre des décisions communes pour aménager un même parcours et remplir les objectifs du jeu. Le nombre de joueurs ciblé a été définit pour garantir une richesse des échanges tout en permettant à chacun d'intervenir facilement. Il peut néanmoins fluctuer d'une personne sans entacher le processus. A ce titre, l'utilisation d'un jeu physique ou jeu de plateau, est apparu comme le support le plus approprié. Lors d'ateliers ou de formations, plusieurs sessions de jeu peuvent être conduites en parallèle. La phase de débriefing commune a alors pour rôle de comparer les différents systèmes d'aménagement de parcours obtenus par les groupes tout en rapportant les échanges ayant eu lieu au cours des parties.

1.2. Le modèle référentiel

Se basant sur le cadre conceptuel de la méthode Bouquet (Chiron *et al*., 2019), la définition du modèle référentiel du jeu a consisté à établir les éléments de pilotage pouvant être mobilisés par les joueurs, ainsi que les mécaniques liant les actions, aux points de services rendus par le parcours.

1.2.1. Les éléments de pilotage à disposition des joueurs

Plusieurs éléments ont été identifiés pour constituer le modèle de référence du jeu : des données imposées par le jeu (éléments de contexte climatique, territorial et sociétal), des données conditionnées au regard des choix des joueurs (temps et argent), des données aléatoires (aléas climatique ou sanitaire, taux de subvention) ainsi que des données d'entrée, constituant le panel de choix des joueurs (types d'aménagements et dispositions physiques, priorités de qualité de vie). Ces dernières constituent alors les éléments de pilotage du jeu.

1.2.2. Les mécaniques régissant les actions des joueurs aux points obtenus

Les actions des joueurs permettent de fournir différents points de services (données de sortie) par le biais de mécaniques établies. Elles ont pour but de simuler une réalité du terrain : sortie des animaux sur le parcours, et les services rendus au regard des aménagements effectués, de leurs localisations sur le plateau et du contexte imposé par le jeu. Elles ont aussi pour objectif d'apporter une dimension ludique essentielle via, par exemple, à des questions posées aux joueurs, dont les bonnes ou mauvaises réponses peuvent faire varier les points obtenus. Cependant, il est à noter que ces mécaniques ont nécessité des simplifications au regard d'une réalité nécessairement plus complexe.

1.3.La mise à l'épreuve

Plusieurs phases de tests ont été réalisées. Une dizaine de sessions mises en place avec des groupes de conseillers, techniciens, experts, ont permis d'affiner les mécaniques du jeu.

Par la suite, des sessions réalisées en conditions réelles auprès des publics cibles (2 groupes d'éleveurs de volailles de chair, 1 groupe d'éleveurs de palmipèdes à foie gras et 2 classes de BTS en productions animales) ont permis de mesurer l'impact du jeu au regard des objectifs pédagogiques initialement fixés, par le biais d'un questionnaire adressé aux participants.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Le matériel et les règles du jeu « Bouquet »

Le jeu construit se décompose en plusieurs éléments physiques : un plateau central représentant le parcours à aménager, un plateau annexe illustrant les 5 catégories de services générées par le parcours, 6 pions « volailles », un dé à 4 faces, 30 pions symbolisant les « unités d'argent » et 20 pions symbolisant les « unités de temps », ainsi qu'un ensemble de cartes : 5 cartes « contexte », 16 cartes « aléas », 10 cartes « surcharge de travail », 6 cartes « qualité de vie », 10 cartes « territoire », 10 cartes « société », 1 carte joker, 100 cartes « questions », 4 cartes « subvention » et 24 cartes « aménagements », qui sont chacune associée à des tuiles à disposer sur le plateau central (Figure 1).

Pour faciliter le déroulement du jeu, sont aussi fournis : les règles du jeu, récapitulées sous forme d'un chevalet à disposer sur la table de jeu et un manuel à destination de l'animateur, reprenant l'explication du déroulé d'une partie, un rappel des principales notions transmises par le jeu ainsi qu'un guide d'animation de la phase de débriefing.

Ainsi, le but du jeu est d'aménager conjointement un parcours de volailles pour générer le maximum de points de service.

2.2. Le déroulé d'une partie

2.2.1. La préparation

Avant de débuter une partie, l'ensemble des éléments du jeu doivent être disposés sur une table, à la vue de chacun des équipiers, avec le plateau représentant le parcours au centre. Les règles sont ensuite expliquées et un joueur est désigné comme le gestionnaire du temps, de l'argent et de la comptabilisation des points de service.

Les cartes définissant le contexte du site de production sont tirées et positionnées sur le plateau central. Elles décrivent où se situe le site de production (ex. « Production de volailles Label Rouge dans le Sud-Ouest, avec vents d'ouest dominants »), les dynamiques sociétales à proximité (ex. « les chambres d'hôtes de votre voisin, offrent une vue sur votre parcours ») ou encore le maillage territorial existant (ex. « un éleveur de bovins voisin est à la recherche d'une production de foin »). L'équipe décide ensuite de ses deux priorités en termes de « qualité de vie » (ex. « garder du temps libre », « pouvoir mécaniser la gestion du parcours », « faire des choses différentes chaque jour » ...). L'ensemble de ces éléments de contexte pourra conditionner les futurs choix de l'équipe et alimenter un débat nécessaire. L'équipe tire ensuite une carte « subvention », qui pourra faire fluctuer les unités d'argent distribués au début de la partie, en fonction du taux accordé. Enfin, chacun des joueurs choisit un pion « volailles », dont il aura la responsabilité et le positionne sur le plateau.

2.2.2. Au cœur du jeu

Une partie se déroule en 5 tours. Un tour se termine lorsque l'équipe n'a plus de temps, plus d'argent ou qu'elle décide de passer au tour suivant. Chaque tour, se décompose en 6 phases :

a) L'équipe obtient 20 unités d'argent (30 unités pour le premier tour) et 5 unités de temps (6

pour le premier tour). A chaque tour, l'argent se cumule, contrairement au temps. Au cours du jeu, si les participants manquent de temps pour assurer la gestion de leur parcours, ils peuvent faire appel à des prestataires, moyennant des unités d'argent, mais contribuant à la catégorie de service « territoire », pour la dynamique locale créée. Dans le cas où l'équipe ne dispose pas suffisamment de ressources pour cela, une pénalité « surcharge de travail » leur est allouée, affectant la catégorie « qualité de vie ».

b) Un des joueurs tire une carte « aléa » et met en place les éventuelles conséquences énoncées. Par exemple, « une averse de grêle a ravagé vos vergers » induit une impossibilité de récolte des fruits sur l'année ou « vous êtes cité en exemple par les élus locaux » permet de gagner autant d'unité d'argent que de points de service « territoire ».

c) Les joueurs réalisent ensuite les travaux d'entretien et/ou de gestion nécessaires des aménagements déjà implantés sur le parcours aux tours précédents. Des ressources en temps et/ou en argent sont nécessaires. Elles sont mentionnées sur les cartes « aménagement » et demandent à être anticipées par le groupe.

d) L'équipe choisit les nouveaux aménagements à implanter à chaque tour ainsi que leurs emplacements sur le plateau.

e) Les joueurs font avancer leurs pions « volailles » respectifs sur le plateau, pour simuler l'exploration du parcours par les animaux selon les règles définies.

f) Les joueurs comptabilisent les points de service associés (points ponctuels et/ou permanents), au regard des aménagements effectués, du contexte du site, conditionnant certains points de service « territoire », « société » ; des priorités de qualité de vie décidés en amont par le groupe et du niveau d'avancement des animaux sur le parcours.

g) A la fin des 5 tours, l'argent restant est converti en service « économie » (5 unités d'argent correspondant à 1 point de service « économie »). Enfin, l'ensemble des points de service sont comptabilisés, permettant d'obtenir une note par catégorie de service sur 20, et une note globale du parcours, sur 100.

2.2.3. Les règles d'avancement des volailles sur le parcours

Pour simuler la sortie des volailles sur le parcours, plusieurs conditions sont nécessaires et des prérequis sont exigés. La mise en place d'un couvert végétal est obligatoire. En outre, la présence d'une haie brise-vent et d'éléments de transition (micro-bosquets ou haies-peignes) est conseillée pour faciliter la sortie des animaux. Si l'équipe choisit de ne pas en implanter, alors les joueurs devront répondre collectivement et correctement à au moins 3 questions sur 4, comme compensation.

Pour le reste, la sortie des pions « volailles » fluctue au regard de 2 conditions :

- La connexion entre les tuiles d'aménagement sur le parcours, qui doivent toutefois permettre une alternance avec des zones non-aménagées. Il est ainsi interdit de disposer plus de 3 tuiles « aménagement » côte-à-côte.
- Une part d'aléa définie par un dé (valeur entre 0 et 3). Si le chiffre tiré sur le dé fait avancer le pion sur une tuile « aménagement », alors la position est conservée. Si le pion atteint une case vide, alors le joueur doit répondre correctement à une question sous peine de retourner à sa place initiale.

La sortie des animaux sur le parcours est repérée au regard de seuils à franchir, symbolisés sur le plateau par des lignes. A chaque fois que l'ensemble des pions ont franchi un seuil (au nombre de 4), des points de service sont alors attribués, pour les catégories « société » et « environnement », relatives aux questions de bien-être animal et d'une meilleure répartition des déjections sur le parcours, permise par une plus grande exploration du parcours par les animaux.

2.2.4. La phase de débriefing

La phase de débriefing est primordiale pour tirer parti des apports du jeu et ramener les échanges ayant eu lieux à des notions plus concrètes. Elle comporte 4 phases :

- Une amorce, qui a pour but de revenir sur les choix d'aménagement réalisés par le collectif au cours du jeu
- Un temps d'échange spécifique sur la notion de services rendus, visant à ouvrir le débat sur les contributions apportées par le parcours et ses multifonctionnalités
- Une approche plus technique, dont le but est d'introduire les différentes étapes de l'aménagement (plantation, entretien, gestion), leurs diversités, potentiels et valorisations possibles, dans une vision plus concrète.
- Une phase d'ouverture, visant à réaliser un bilan des notions découvertes au cours du jeu.

Ces éléments peuvent permettre d'amorcer un temps de formation ou d'appui technique.

2.3. Retour des premiers utilisateurs

Les testeurs ont très majoritairement approuvé l'intérêt d'utiliser le jeu lors de sessions de formation ou d'ateliers de découverte autour de la question du parcours de volailles. Les étudiants et les éleveurs ont trouvé intéressante l'approche globale du parcours induite par le jeu, ainsi que les échanges ayant eu lieu à ce sujet : « Pour des non-initiés, c'est bien pour susciter l'intérêt » (éleveur), « Je suis en

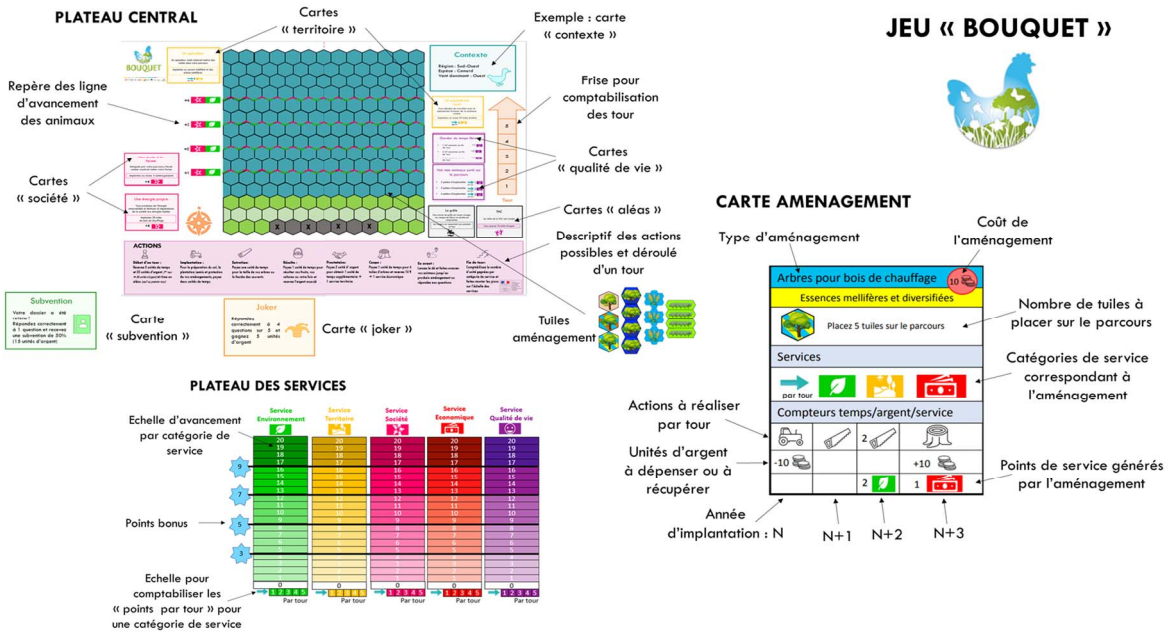


Figure 1 : Composition du jeu « Bouquet »

SESSION

HYGIENE ET QUALITE

DES PRODUITS

SESSION
HYGIENE ET QUALITE
DES PRODUITS

Posters

ACCUMULATION DANS LES TISSUS ET TRANSFERT DANS L'ŒUF DES PARAFFINES CHLOREES APRES INGESTION PAR LA POULE PONDEUSE

Mézière Marie[1], Marchand Philippe[1], Hutinet Sébastien[1], Larvor Frédéric[1], Baéza Elisabeth[2], Le Bizec Bruno[1], Dervilly Gaud[1], Cariou Ronan[1]

[1]LABERCA, Oniris, INRAE, 44307 Nantes, France
[2]INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 Nouzilly, France
laberca@oniris-nantes.fr

RÉSUMÉ

Les paraffines chlorées (CP) sont des mélanges complexes de dizaines des groupes de formule $C_xH_{2x+2-y}Cl_y$, comportant chacun des milliers d'isomères. Leur production, actuellement estimée à plus de 2 millions de tonnes par an, répond à des usages variés en tant que retardateurs de flamme, additifs plastiques et lubrifiants. Elles sont en partie libérées dans l'environnement au cours de leur cycle de vie. Les CP à chaînes courtes (C_{10}-C_{13}) ont récemment été classées comme polluants organiques persistants dans le cadre de la convention de Stockholm.

La présente étude visait à étudier l'influence de la longueur de la chaîne et du taux de chloration des CP sur leur biodisponibilité et leur distribution dans les tissus de la poule pondeuse, animal modèle et d'intérêt agronomique. Cinq formulations de CP ont été incorporées dans l'aliment pour atteindre les niveaux hauts environnementaux. Soixante-neuf poules ont été élevées en cages individuelles pendant 13 semaines. Les œufs ont été collectés quotidiennement et des excrétas toutes les deux semaines. Des sacrifices sériés ont permis de collecter muscle, tissu adipeux, foie, sérum, et reste de la carcasse.

Une augmentation du poids des œufs statistiquement moins prononcée pour le groupe exposé après 42 jours suggère un impact négatif sur les performances de ponte. Une cinétique de transfert dans les œufs a été observée pour 4 des 5 formulations, avec un état d'équilibre atteint au bout de 14 jours et un taux maximal observé pour le groupe $C_{30}H_{53}Cl_9$. A l'état d'équilibre, les CP ont été retrouvées dans tous les tissus à diverses concentrations, ce qui indique un potentiel d'accumulation. La dépuration cumulée par les excréta et les œufs à l'équilibre n'expliquait qu'une proportion minoritaire des quantités ingérées, suggérant la possibilité d'une biotransformation.

ABSTRACT
Accumulation in tissues and transfer to eggs of laying hens of chlorinated paraffins after dietary exposure

Chlorinated paraffins (CPs) are complex mixtures of polychlorinated *n*-alkane chains of chemical formula $C_xH_{2x+2-y}Cl_y$, produced at more than 2 million tons a year. They are used as plasticizers, flame retardants or lubricants. CPs are partly and unintentionally released in the environment and are transferred along the food chains. Short-chain CPs (C_{10}-C_{13}) have been listed to the Stockholm Convention in 2017.

The present work aimed at investigating the influence of the chain length and the chlorine number of CPs on their bioavailability and their distribution in tissues of the laying hen, a model organism of agronomic interest. Feed was fortified at environmentally relevant levels with five technical mixtures. Hens (n = 69) were raised in individual cages during 13 weeks. The eggs were collected daily and excreta every two weeks. Successive slaughters allowed collecting muscle, adipose tissue, liver, serum, and the rest of the carcass.

A slower increase of the egg weight in the exposed group after 42 days suggested a negative influence on the laying performance. Four of the five mixtures showed a transfer kinetics in eggs, the steady state being reached after 14 days. The highest transfer rate was observed for the $C_{30}H_{53}Cl_9$ homologue group. At the steady state, CPs were observed in all tissues at various levels, showing a bioaccumulation potential. At the steady state as well, the cumulative depuration through excreta and eggs explained only a minor proportion of the intake, suggesting the occurrence of biotransformation.

INTRODUCTION

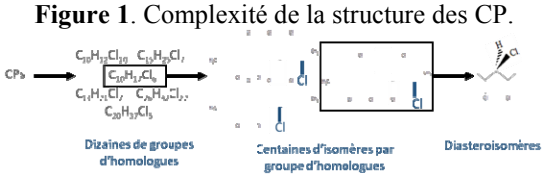
Les paraffines chlorées (CP), de formule chimique $C_xH_{2x+2-y}Cl_y$, sont des mélanges complexes de centaines de groupes d'homologues ayant une longueur de chaîne carbonée linéaire et un nombre de chlore variables, comprenant eux-mêmes des centaines d'isomères (Ali, 2010) (Figure 1). Elles sont typiquement subdivisées en trois groupes en fonction de la longueur de leur chaîne : les chaînes courtes (C_{10}-C_{13}, SCCP), les chaînes moyennes (C_{14}-C_{17}, MCCP), et les chaînes longues ($C_{\geq 18}$, LCCP). Ces substances sont synthétisées à partir de chaînes de *n*-alcanes issues de l'industrie pétrolière. Grâce à une large gamme de propriétés chimiques, leur utilisation comme retardateurs de flamme, additifs plastiques et lubrifiants a fortement augmenté depuis les années 1980 (Glüge *et al.*, 2016), récemment estimées à plus de 1 million de tonnes par an (EFSA, 2020).

Une fraction de ces volumes est libérée dans l'environnement lors de la production, de l'utilisation ou de la destruction des produits les contenant. Or, les propriétés physico-chimiques des CP se rapprochent de celles de contaminants halogénés tels que les polychlorobiphényles (PCB), dont le danger est reconnu et bien décrit (Muir, 2010). Dans ce contexte, évaluer le risque associé à ces contaminants en lien avec l'exposition humaine est une nécessité pressante.

Du point de vue de la caractérisation du danger, il est urgent de déployer des efforts dans la caractérisation des dangers pour non seulement confirmer la toxicité des SCCP (déjà classées comme cancérogènes), mais surtout étudier celle des MCCP et des LCCP.

Du point de vue de l'évaluation de l'exposition, de plus en plus de données de contamination des SCCP dans l'environnement sont rapportées (<0.001-517 ng/m^3 dans l'air, 4-121 ng/g ou 2-669 ng/g de matière sèche dans le sol ou les sédiments, respectivement) (Wei *et al.*, 2016 ; Glüge *et al.*, 2018), établissant leur persistance et leur capacité de transport sur de longues distances. Les CP étant fortement hydrophobes et lipophiles, elles sont accumulées préférentiellement dans les compartiments environnementaux hydrophobes tels que le sol et les sédiments, mais leur bioamplification dans les écosystèmes marins a également été rapportée (Vorkamp *et al.*, 2019). Elles sont en effet accumulées dans les fractions lipidiques du biote. En parallèle, les données sur les MCCP restent limitées et les données sur les LCCP sont quasi inexistantes. Dans les denrées alimentaires, une vingtaine d'études font l'état de la contamination des SCCP (de quelques ng à plusieurs milliers de ng par g de matière fraîche (Iino *et al.*, 2005 ; Chen *et al.*, 2018 ; Gao *et al.*, 2019 ; Krätschmer *et al.*, 2019 ; Li *et al.*, 2020),

Figure 1. Complexité de la structure des CP.



dont seulement quatre présentent l'état de la contamination en Europe, et aucune en France. De même que pour l'environnement, les données de contamination de l'alimentation par des MCCP et des LCCP sont presque inexistantes.

Ces données d'évaluation du risque ont conduit à la récente classification des SCCP en tant que POP dans le cadre de la Convention de Stockholm (UNEP, 2017). Toutefois, le manque criant de données toxicologiques et d'exposition précédemment mis en lumière limite l'évaluation du risque associé à l'exposition aux SCCP, MCCP et LCCP.

Parmi les denrées alimentaires, il apparaît important d'évaluer la contamination potentielle des œufs, et surtout la relation entre l'ingestion de CP et la dépuration *via* la ponte chez la poule. En effet, il est bien connu que les volailles sont exposées aux POP *via* l'ingestion d'aliments contaminés ou *via* la consommation de sols dans lesquels les POP s'accumulent (Jondreville *et al.*, 2014 ; Polder *et al.*, 2016). De fait, des niveaux de CP dans les aliments pour volaille ont déjà été rapportés (Dong *et al.*, 2019 ; Sun *et al.*, 2020) et les œufs de poule d'une zone polluée chinoise contenaient des quantités extrêmement élevées de SCCP et de MCCP (plusieurs dizaines de milliers de ng/g de poids frais) (Zeng *et al.*, 2018).

Le présent travail visait à obtenir des informations sur le comportement des CP le long de la chaîne alimentaire et des éléments sur leur toxicocinétique. Pour aborder cette problématique, une expérimentation animale a été élaborée et mise en œuvre après accord du comité d'éthique, en collaboration avec le pôle d'expérimentation avicole de Tours (PEAT, INRAE, Nouzilly). Cette expérimentation visait à étudier l'influence de la longueur de la chaîne et du taux de chlore des CP sur leur biodisponibilité et distribution dans les tissus d'un animal modèle, la poule pondeuse, après exposition alimentaire. Cet animal a été sélectionné à la fois parce qu'il s'agit d'un oiseau terrestre dont les mécanismes de digestion/absorption sont relativement similaires à ceux de l'homme, et en raison de son intérêt agronomique.

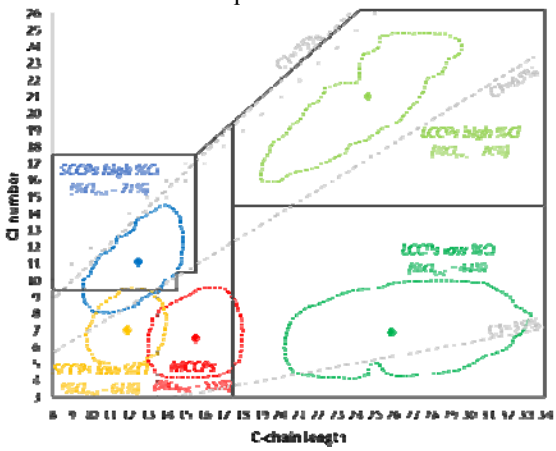
Le travail présenté a fait l'objet de deux articles dans une revue internationale à comité de lecture (Mézière *et al.*, 2021a, 2021b).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Substances de référence

Afin de couvrir l'ensemble de la gamme de CP, cinq mélanges techniques ont été fournis soit par AccuStandard Inc. (New Haven, CT, USA), dont Chlorowax™ 500C (SCCPs, faible taux de chlore, SCCPs low %Cl), Paroil™ 179–HV (SCCP, fort taux de chlore, SCCP high %Cl), Unichlor™ 40–90 (LCCP, faible taux de chlore, LCCP low %Cl) et CPW–100 (LCCP, fort taux de chlore, LCCP high %Cl), soit par des collègues de l'EMPA (Suisse) : (I-42, MCCP, faible taux de chlore). Les profils en groupes d'homologues (groupes d'isomères) sont présentés en Figure 2. Le ^{13}C-γ-Hexabromocyclododécane (HBCDD) et le d_{18}-β-HBCDD ont été procurés par Wellington Laboratories Inc. (Ontario, Canada) et ont été utilisés comme étalons interne (IS) et externe (RS), respectivement.

Figure 2. Profils expérimentaux des 5 mélanges techniques utilisés.



1.2. Design expérimental

L'aliment a été préparé à partir de maïs, blé, soja, et tous les nutriments nécessaires aux poules pondeuses. Deux lots d'aliment ont été préparés en ajoutant 1,8 % d'huile de colza témoin ou enrichie en CP. La concentration cible en CP de l'aliment fortifié était de 200 ng/g pour chacun des cinq mélanges techniques. Chaque lot a été granulé (diamètre 5 mm).

L'expérimentation (agrément APAFIS#17145-2018101712299769v2) a été menée dans une installation appropriée de l'unité expérimentale PEAT. Quatre-vingts poules pondeuses (Isa Brown) ont été logées dans des cages individuelles et élevées dans des conditions conventionnelles de température et d'éclairage, avec aliment témoin distribuée *ad libitum* pendant la période d'acclimatation (1 mois). A J0, 11 poules ont été exclues pour limiter la variabilité individuelle après pesée. Les poules restantes (1663±105 g, n=69) ont été réparties en 2 groupes recevant soit l'aliment témoin (n=21), soit l'aliment fortifié (n=48), pendant un maximum de 91 jours (13 semaines). Les refus ont été enregistrés chaque semaine. Les poules ont ingéré 107±13 g d'aliments par jour tout au long de l'expérimentation, ce qui correspond à une exposition de 5×21 µg de CP par jour.

Les aliments distribués en début, milieu et fin d'expérimentation ont été échantillonnés. Les œufs ont été collectés et pesés quotidiennement. La totalité des CP étant attendue dans le jaune (lipophilicité), les jaunes ont été poolés par jour pour les poules témoins ou exposées, à l'exception du jour 90 où ils ont été conservés individuellement pour évaluer la variabilité inter-individuelle. Les poules ont été pesées et sacrifiées de manière sériée, après un jeûne de 12 h, par électronarcose bitemporale suivie d'une section de l'artère carotide. Le sang a été prélevé et le sérum séparé après coagulation. Les poules ont ensuite été plumées. Puis, le foie, la graisse abdominale, les muscles de la jambe gauche (cuisse et pilon) et le reste de la carcasse ont été collectés et pesés. De plus, les excrétas (fèces + urine) produits au cours des 14 derniers jours des individus abattus au jour 91 ont été collectés et poolés. Tous les échantillons ont été conservés à -20 °C jusqu'à l'analyse.

Les jaunes de poule de 5 et 17 jours (groupe témoin et exposé, resp.) ont été sélectionnés pour l'étude de la cinétique de transfert dans l'œuf. Les foies, les muscles, le sérum, le tissu adipeux et les carcasses à J77 (exposés) et J91 (témoins et exposés), ainsi que les excrétas, ont été sélectionnés pour le bilan de matière à l'état d'équilibre.

1.3. Préparation de l'échantillon

Le foie, le muscle et la carcasse ont préalablement été homogénéisés et lyophilisés. Les excrétas ont été séchés à 60 °C pendant 2 jours puis homogénéisés. L'aliment, le maïs, le blé et le soja ont homogénéisés. Les CP ont été co-extraites avec les lipides par extraction liquide sous pression (PLE, SpeedExtractor E-914/E-916, Büchi, France) avec un mélange toluène/acétone (7:3, *v/v*). La matière grasse du tissu adipeux a été directement prélevée. Après précipitation des protéines avec de l'oxalate de dipotassium, le sérum a été extrait par partage liquide-liquide (méthanol, éther diéthylique). Les lipides extraits ont été déterminés de manière gravimétrique, sauf pour le sérum, pour lequel les classes lipidiques (triglycérides, cholestérol estérifié et libre, phospholipides) ont été déterminées avec des kits enzymatiques (Biolabo, Maizy, France) (Marchand *et al.*, 2010).

L'étalon interne (^{13}C-γ-HBCDD, 5 ng) a été ajouté avant purification à travers une colonne remplie de 10 g de gel de silice neutre et de 20 g de gel de silice acide (44 % H_2SO_4). L'élution a été réalisée avec 60 mL d'un mélange dichlorométhane/hexane (1:1, *v/v*). Les extraits ont été reconstitués dans 1 mL d'hexane et chargés sur une colonne de 6 g de Florisil désactivé avec 3 % d'eau. L'élution a été réalisée avec 20 mL de dichlorométhane. Les extraits ont été reconstitués dans 25 µL d'acétonitrile contenant l'étalon externe (d_{18}-β-HBCDD, 0,2 ng/µL).

1.4. Acquisition et traitement des données

L'acquisition et le traitement des données ont été effectués comme décrit par Mézière *et al.* (2020) avec un couplage chromatographie liquide – spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) équipé d'une source d'ionisation électrospray (Q-Exactive, Thermo Fischer Scientific, San José, CA, USA). Brièvement, la séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne analytique Hypersil Gold (100 mm x 2,1 mm, 1,9 µm) (Thermo Fischer Scientific). La phase mobile était constituée de 70 % à 100 % d'ACN dans de l'eau. Un mélange de dichlorométhane/acétonitrile (1:1, *v/v*) a été ajouté après la colonne pour améliorer la formation des adduits chlorés ciblés. Les données ont été acquises dans le mode négatif sur la plage *m/z* [300–1500], à une résolution de 140 000 FWHM à *m/z* 200. Les signaux des adduits $[M+Cl]^-$ ont été intégrés dans l'environnement R (C_8-C_{36}, Cl_4-Cl_{30}, ±5 ppm).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Aliment

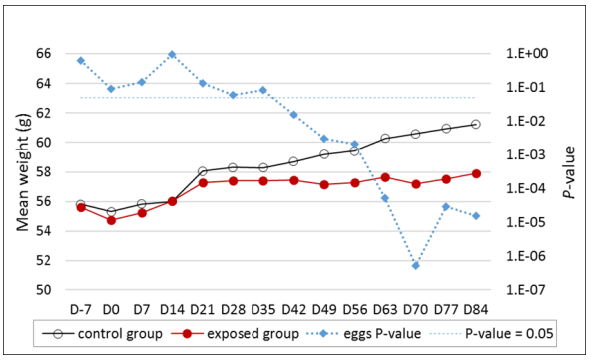
Des traces de LCCP et SCCP à fort taux de Cl, ainsi que de MCCP ont été observées dans l'aliment témoin (120, 25 et 57 ng/g, respectivement). Un tel phénomène avait déjà été rapporté par l'étude de Dong et al. (2019) qui ont mesuré des niveaux de SCCP et MCCP de 140 à 2000 ng/g dans les aliments d'origine animale et végétale, les aliments végétaux étant les moins contaminés. L'analyse des matières premières constitutives de l'aliment a révélé que les profils de contamination des SCCP et MCCP dans le blé, le maïs et surtout le soja correspondaient à celui de l'aliment témoin. La mesure des niveaux de fortification (différence entre aliment fortifié et témoin) correspondait à la valeur cible de 200 ng/g pour toutes les catégories de CP. L'exposition quotidienne réelle était donc de 24, 24, 25, 21 et 32 µg/jour de SCCP faible %Cl, SCCP fort %Cl, MCCP, LCCP faible %Cl et LCCP fort %Cl, respectivement.

2.2. Performances de ponte

Le poids corporel des poules à l'abattage (1645±139 g) et le nombre d'œufs produits quotidiennement (0,96±0,05) sont restés stables dans le temps. Le poids moyen des œufs a légèrement augmenté de 55,3±2,8 et 54,8±3,6 g (J1) à 61,2±1,5 et 57,9±4,6 g (J91) pour le groupe témoin et le groupe exposé, respectivement (Figure 3). L'augmentation du poids des œufs était statistiquement moins prononcée pour les poules exposées par rapport aux poules témoins après J42 (P<0,05). Une telle observation peut indiquer que l'exposition aux CP induit un effet physiologique sur le poids des œufs.

Aucun changement significatif n'a été observé entre les groupes témoin et exposé concernant la proportion de jaune ou la teneur en lipides dans le jaune. La diminution du poids des œufs ne semble donc pas être liée à la teneur en jaune, suggérant que les CP affectent le processus de ponte de manière plus globale. Si une telle observation se confirmait, l'exposition des poules pondeuses aux CP aurait un fort impact sur les performances agronomiques.

Figure 3. Evolution de la masse moyenne des œufs au cours du temps, avec la valeur *P* du test de Student.

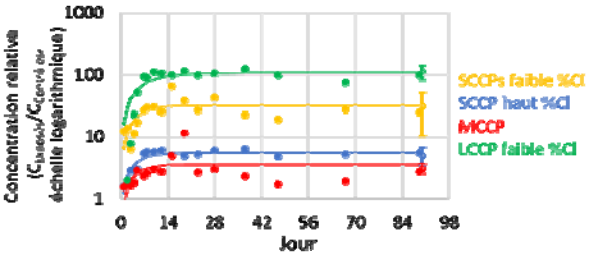


2.3. Cinétiques dans l'œuf

Une cinétique de premier ordre a été observée pour 4 des 5 mélanges techniques, avec un état d'équilibre atteint au bout de 14 jours (Figure 4). Pour les LCCP fort %Cl, seules de faibles traces des groupes d'homologues de plus faible masse ont été détectées. Parmi les quatre mélanges techniques transférés, une augmentation du taux de transfert à l'équilibre des groupes d'homologues en fonction de la longueur de la chaîne, la teneur en chlore et le coefficient de partage octanol-eau (K_{oe}) a été observée, jusqu'à atteindre un optimum pour $C_{30}Cl_9$. En conséquence, les taux de transfert des mélanges techniques ont augmenté avec la longueur de chaîne (SCCP<MCCP<LCCP) et le nombre de chlore. La mise en évidence d'un fort potentiel de transfert pour les LCCP faible %Cl était intéressante car ces longueurs de chaînes sont peu étudiées, et aucune donnée n'est reportée sur leur transfert après exposition alimentaire chez les oiseaux.

Finalement, le transfert des CP semble donc gouverné par deux phénomènes opposés, d'une part le K_{oe} comme facteur favorable, et d'autre part le

Figure 4. Données expérimentales (points) ou modélisées (lignes) représentant la cinétique de transfert des CP aux œufs de poule pondeuse après exposition alimentaire.



poids moléculaire dont la limite de 1000 Da est communément évoquée pour le passage de la barrière gastro-intestinale (EFSA, 2008).

2.4. Accumulation dans les tissus

La distribution et l'accumulation des CP dans l'ensemble des tissus et fluides collectés ont été étudiées à J91 après vérification que l'état d'équilibre était bien atteint depuis au moins J77.

Les SCCP et les MCCP ont été retrouvées à des niveaux équivalents dans tous les tissus, ce qui indique une diffusion passive dans les tissus selon leur taux de lipides respectifs et un potentiel d'accumulation (Figure 5).

Les LCCP à bas taux de chlore ont été retrouvées dans toutes les matrices, avec des niveaux relativement plus importants dans le foie, le sérum et les œufs. Elles apparaissent donc aptes à circuler et être distribuées dans les différents compartiments. Il convient ainsi de poursuivre les études toxicologiques sur ces composés afin d'évaluer le risque lié à l'exposition à des chaînes plus longues. Cependant, puisqu'elles ont été retrouvées à des teneurs plus élevées dans les excrétas et œufs, une accumulation relativement faible peut être attendue.

Les LCCP à haut taux de chlore, ont été retrouvées dans le foie et les excrétas principalement, même si des traces des homologues de plus faible masse ont également été détectées dans le sérum et la carcasse, suggérant une distribution de ces homologues dans le corps de la poule. La forte présence dans le foie suggère leur capacité à être absorbées, mais elles seraient ensuite soit retenues dans le foie, soit excrétées *via* la bile dans les intestins, soit biotransformées.

De plus, un bilan massique à l'équilibre a révélé que la dépuration cumulée par les excrétas et les œufs n'expliquait qu'une proportion minoritaire des quantités ingérées (Figure 6). L'hypothèse la plus plausible est la biotransformation, comme le suggèrent le peu d'études traitant de ce sujet dans la littérature. Une évaluation plus approfondie du métabolisme des CP sera nécessaire pour compléter les résultats de la présente expérience.

Figure 5. Concentrations pour chaque catégorie de CP dans les matrices (ng/g de lipides) et excrétas (ng/g de matière sèche) de la poule pondeuse à l'équilibre (centiles 0, 25, 50, 75 et 100).

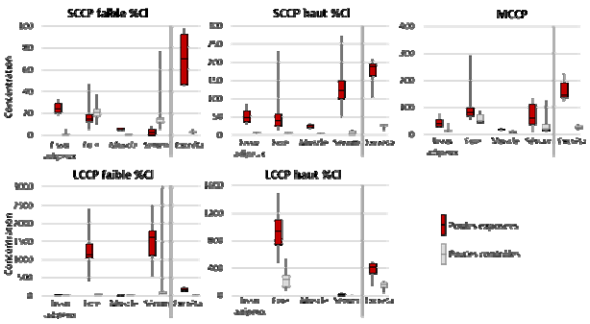
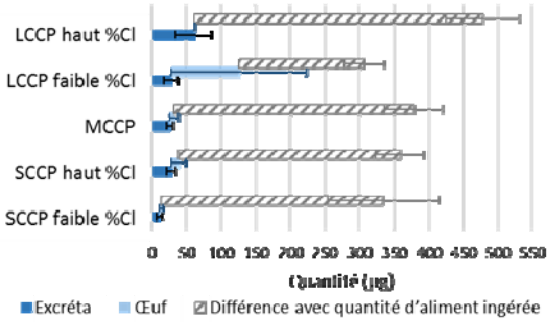


Figure 6. Bilan de matière de chaque catégorie de CP à l'équilibre entre les excréments et les œufs relatifs à la quantité d'aliments ingérée, estimé sur 14 jours à l'équilibre.



CONCLUSION

Cette expérimentation a prouvé la biodisponibilité de l'ensemble des CP, quels que soient la longueur de chaîne ou le taux de chloration impliqués. Cependant, une forte différence de comportement après absorption a été mise en évidence. En effet, les LCCP à fort taux de chlore sont majoritairement retenues dans le foie, tandis que les LCCP à bas taux de chlore sont distribuées par le sang mais sont principalement excrétées dans les œufs ou retenues dans le foie, et que les SCCP et MCCP sont distribuées dans les tissus de la poule de façon homogène. Ces nouvelles connaissances invitent à poursuivre les recherches utiles à l'évaluation de l'exposition du consommateur par voie alimentaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ali, 2010. Springer. DOI.
Chen et al., 2018. Environ. Sci. Technol., DOI.
Dong et al., 2019. Sci. Total Environ., DOI.
EFSA, 2008. EFSA Journal, DOI.
EFSA, 2020. EFSA Journal, DOI.
Gao et al., 2019. Environ. Int., DOI.
Glüge et al., 2016. Sci. Total Environ., DOI.
Glüge et al., 2018. Environ. Sci. Technol., DOI.
Iino et al., 2005. Environ. Sci. Technol., DOI.
Jondreville et al., 2014. Chemosphere,. DOI.
Krätschmer et al., 2019. Chemosphere, DOI.
Li et al., 2020. Chemosphere, DOI.
Marchand et al., 2010. Chemosphere, DOI.
Mézière et al., 2020. J. Chromatogr. A, DOI.
Mézière et al., 2021a. Food Chem., DOI.
Mézière et al., 2021b. Food Chem., DOI.
Muir et al., 2000. Springer. DOI.
Polder et al., 2016. Sci. Total Environ., DOI.
Sun et al., 2020. J. Hazard. Mat., DOI.
UNEP, 2017. UNEP/POPS/COP.8/SC.8/11. Lien.
Vorkamp et al., 2019. Emerg. Contam., DOI.
Wei et al., 2016. Environ. Int., DOI.
Zeng et al., 2018. Environ. Int., DOI.

ACCUMULATION DANS LES TISSUS ET TRANSFERT DANS L'ŒUF DES PARAFFINES CHLOREES APRES INGESTION PAR LA POULE PONDEUSE

Marie MÉZIÈRE[1], Philippe MARCHAND[1], Sébastien HUTINET[1], Frédéric LARVOR[1], Elisabeth BAÉZA[2], Bruno LE BIZEC [1], Gaud DERVILLY[1], Ronan CARIOU[1]

[1]LABERCA, Oniris, INRAE, Nantes, France
Fax : +33 (0)2 40 68 78 78 - Tél : +33 (0)2 40 68 78 80
laberca@oniris-nantes.fr

[2]INRAE, Université de Tours, BOA, Nouzilly, France

Poster issu de 2 articles publiés :
https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128491
https://doi.org/10.3390/jerph18020690

Introduction

Les **paraffines chlorées (CP)** sont des mélanges complexes de dizaines des groupes de formule $C_xH_{2x+2-y}Cl_y$, comportant chacun des milliers d'isomères. Leur production, actuellement estimée à plus de 2 millions de tonnes par an, répond à des usages variés en tant que retardateurs de flamme, additifs plastiques et lubrifiants. Elles sont en partie libérées dans l'environnement au cours de leur cycle de vie. Les CP à chaînes courtes (C_{10}-C_{13}) ont récemment été classées comme **polluants organiques persistants** dans le cadre de la convention de Stockholm.

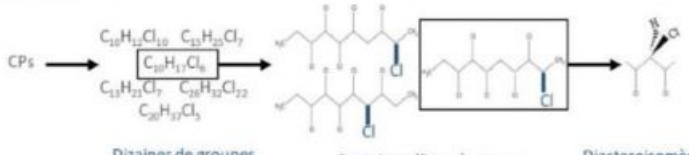


Fig. 1 : Complexité de la structure des CP

La présente étude visait à étudier l'influence de la **longueur de la chaîne** et du **taux de chloration** des CP sur leur **biodisponibilité** et leur **distribution** dans les tissus de la **poule pondeuse**, animal modèle et d'intérêt agronomique.

Matériel et méthodes

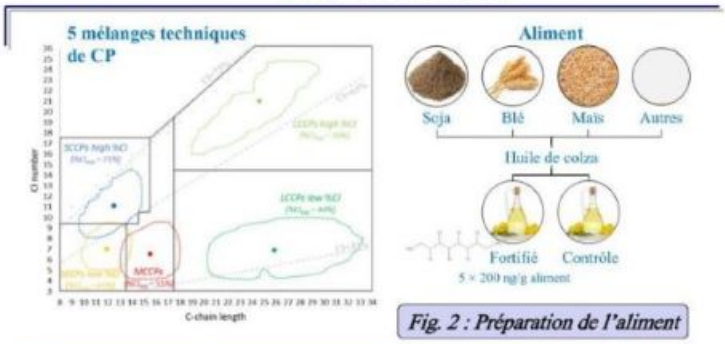


Fig. 2 : Préparation de l'aliment

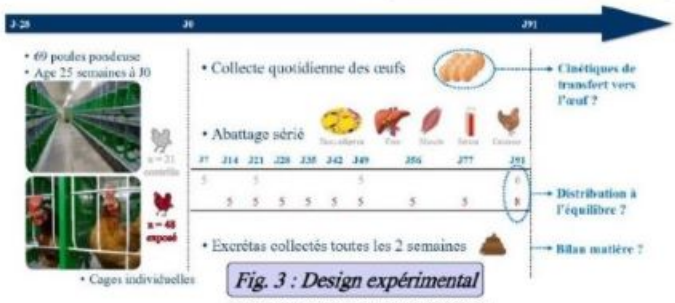


Fig. 3 : Design expérimental
(APAFIS#17145-2018101712299769v2)

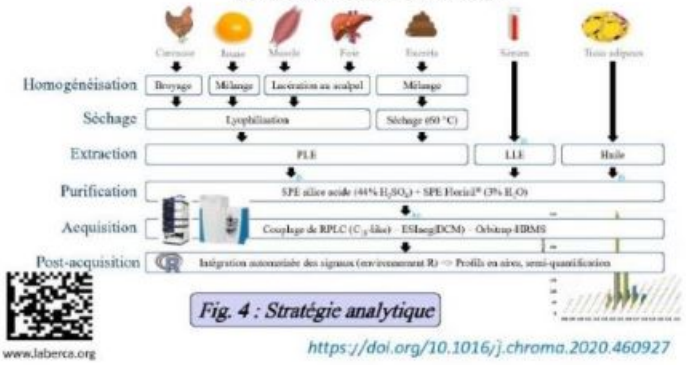


Fig. 4 : Stratégie analytique

https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460927

Résultats

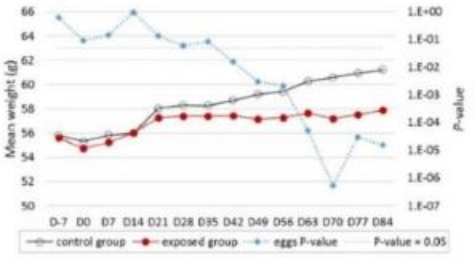
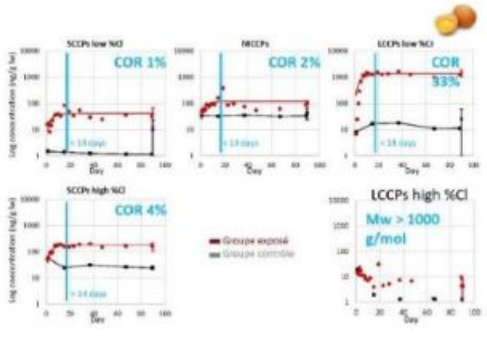


Fig. 5 : Evolution de la masse moyenne des œufs au cours du temps

Fig. 6 : Cinétiques de transfert dans l'œuf



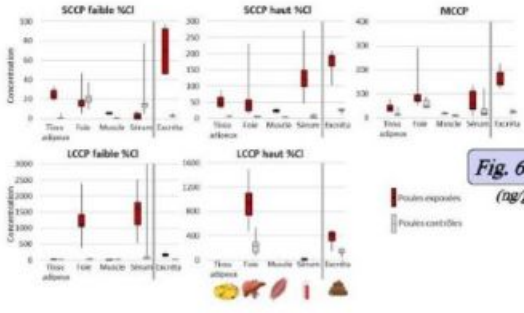


Fig. 6 : Concentrations à J91
(ng/g lw, sauf excrétas ng/g dw)

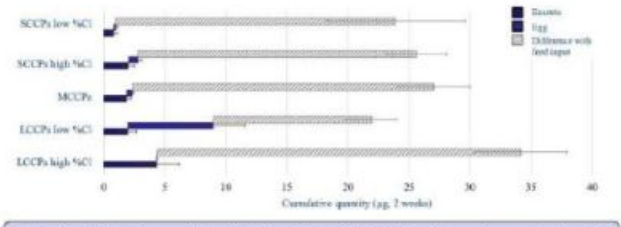


Fig. 8 : Bilan de matière à l'équilibre (J77-J91, aliment/excretas/œufs)

Conclusion

- Performances de ponte diminuées (effet physiologique)
- État d'équilibre dans l'œuf atteint rapidement, à J14
- Taux de transfert dans l'œuf augmentant avec nombre de C et de Cl...
  ...mais pas de transfert de LCCP high %Cl (poids moléculaire trop élevé)
- Distribution des
  - SCCP et MCCP dans tous les tissus
  - LCCP low %Cl surtout dans le foie, le sérum et les œufs
  - LCCP high %C surtout dans le foie (excrétion biliaire ?)
- Bilan de matière suggérant une large biotransformation

Poster présenté aux 14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras – JRA 2022, Tours, France, 9 – 10 mars 2022.

www.laberca.org

REVUE SUR LA TRANSLUCIDITE DE LA COQUILLE D'OEUF : DESCRIPTION, CAUSES ET VOIES D'AMELIORATION DE LA QUALITE DES OEUFS

Huard Mireille[1]

[1]*NOVUS Europe- Leuvensesteenweg 643, Box 15, 1930 ZAVENTEM, Belgique*
mireille.huard@novusint.com

RÉSUMÉ

La translucidité de la coquille d'œuf est un problème de qualité qui affecte principalement l'apparence de l'œuf mais peut aussi être impliqué dans sa résistance à la rupture et aux contaminations microbiennes, et concerne aussi bien les œufs de consommation que les œufs à couver. Si le problème n'est pas récent, il n'est pas encore assez étudié pour être complètement expliqué. L'objectif de cet article est de faire la synthèse bibliographique des articles disponibles sur ce sujet. La revue bibliographique réalisée s'attache à décrire d'abord le phénomène qui peut être mesuré simplement en élevage par un mirage sous une lampe, moyennant une échelle de notation de sévérité. La translucidité de la coquille est le résultat du transfert de l'humidité du contenu de l'œuf à travers la membrane de la coquille et de son accumulation dans la coquille, ce qui entraîne une transmission accrue de la lumière. Cette translucidité est due à des irrégularités structurelles de la coquille et des membranes coquillières, même si les causes ne sont pas claires : il est probable qu'elle soit due à une combinaison de facteurs, notamment la formation des pores, l'ultrastructure de la couche mamillaire et peut-être la formation de la calcite.

Les conséquences de la translucidité sont de plusieurs ordres : on fera le point sur le lien avec la résistance de la coquille à la rupture, avec les échanges gazeux et la pénétration des bactéries. Quant à l'effet de la translucidité sur les performances de reproduction, il peut être variable selon les auteurs.

Certains facteurs peuvent favoriser son apparition, comme l'âge des poules, leur origine génétique, les conditions d'élevage (humidité ambiante, densité), l'état sanitaire du troupeau et la nutrition.

Parmi les éléments nutritionnels pouvant impacter la translucidité, certains oligoéléments comme le Cuivre, Zinc et Manganèse pourraient jouer un rôle, par leur effet sur les membranes coquillières et la structure de la couche mamillaire. Des recherches complémentaires sont toutefois nécessaires pour montrer leur effet direct sur la translucidité.

ABSTRACT

Review on Eggshell translucency : description, causes and consequences for the egg production

Eggshell translucency is a quality issue that affects not only the appearance of the egg but also could be involved in its resistance to breakage and microbial contamination, and concerns both table eggs and hatching eggs. Although the problem is not recent, it is not yet studied enough to be fully explained. This article proposes to review of the literature. The review will first describe the phenomenon, which can be measured simply by candling under a lamp, using a severity scoring scale. The translucency of the shell is the result of the transfer of moisture from the egg contents through the shell membranes and its accumulation in the shell, which leads to increased light transmission. This translucency is due to structural irregularities in the egg shell and membranes, although the causes are unclear: it is likely to be due to a combination of factors, including pore formation, ultrastructure of the mamillary layer, and possibly calcite formation.

The consequences of translucency will be investigated, including its role on shell resistance to breakage, gas exchange and bacterial penetration. As for the effect of translucency on reproductive performance it may vary according to the authors.

Some factors may favor its appearance, such as the age of the hens, genetics, rearing conditions (humidity, density), sanitary state of the flock and nutrition.

Among the nutritional elements that can have an impact on translucency, certain trace elements such as Copper, Zinc and Manganese may play a role, through their effect on shell membranes and the structure of the mammillary layer. Further research is needed to show their direct effect on translucency.

INTRODUCTION

La coquille d'œuf est une partie essentielle de l'œuf, car elle permet d'assurer la protection physique de l'œuf et de l'embryon. Sa qualité contribue également à la valeur économique de l'œuf, en réduisant les pertes liées à une mauvaise apparence ou à des problèmes de casse (Ketta and Tůmová 2016). Malgré ces propriétés de résistance et de protection de l'œuf exceptionnelles, la coquille de l'œuf est sujette à des défauts, qui peuvent impacter non seulement la qualité intrinsèque de l'œuf (fraicheur) mais aussi sa qualité microbiologique et sa valeur économique.
On s'intéresse dans cette revue à un défaut de qualité en particulier, dont les différentes dénominations dans les articles internationaux dénotent déjà d'une certaine confusion et de l'absence de définition claire : la translucidité. Selon les auteurs, on peut retrouver ce défaut sous le nom anglais de translucent eggs (œufs translucides) (Wang et al. 2017 ; Ray and Roberts 2013), mottled (mouchetés)(Aviagen, Bramwell R.K. 2002), striped marked (marqués d'une bande) ou même hairline cracks (microfissures en cheveu) . Ces deux dernières dénominations désignent selon les auteurs des coquilles présentant des lignes visibles plus blanches au mirage, mais sans fissure visible de la coquille ou de la membrane (Liu et al. 2017), ou seulement de la membrane (Aviagen. ; Barnett et al., 2004), ce qui les place à part dans la définition de la translucidité.

1. CONSTITUTION ET FORMATION DE LA COQUILLE

La coquille d'œuf de poule représente environ 11% du poids de l'œuf, et est constituée principalement de carbonate de calcium (94-96%) et d'une matrice organique principalement constituée de protéoglycanes et de protéines (4%) (Figure 1) (Hincke et al. 2012).
La coquille est organisée en couches successives, avec à sa base 2 membranes : une interne, en contact avec l'albumen, l'autre, externe en contact avec la couche minérale. Les membranes forment un réseau de fibres protéiques non orientées. Ces membranes sont intimement connectées avec la partie minérale qui, elle, se compose de 3 couches. Sur la membrane externe, des petits amas amorphes calcifiés forment les noyaux mamillaires à partir desquels se développent la couche mamillaire, puis la couche palissadique, composée de grandes colonnes. Cette couche palissadique correspond aux deux tiers de l'épaisseur minérale de la coquille d'œuf ; elle se termine par une fine couche cristalline verticale perpendiculaire à la surface de la coquille et située à la surface de la coquille externe (Gautron et al., 2021, Solomon, 2010).
Enfin, la cuticule couvre la couche minérale d'un film de protéine, qui en séchant permet de boucher les pores et de limiter les échanges gazeux entre l'intérieur et l'extérieur de l'œuf(Ketta and Tůmová 2016).
Des pores qui traversent ou non toute la coquille viennent compléter cette structure. Ils se forment à partir de la couche mamillaire, lorsqu'il y a regroupement de plusieurs noyaux mamillaires (4-5) qui en poussant à la fois latéralement et verticalement, laissent en leur centre un espace qui va pouvoir servir de canal d'échange entre l'œuf et l'extérieur (Solomon, 2010).
La résistance à la rupture de la coquille est en particulier liée à sa structure cristalline, mais aussi à la constitution de ses membranes coquillières.
Les membranes de la coquille d'œuf sont synthétisées et déposées dans le segment isthmique de l'oviducte. Les membranes de la coquille d'œuf sont composées d'un réseau entrelacé de fibres protéiques riches en cystéine, en collagène, qui sont réticulées par des liaisons irréversibles avec des dérivés de la lysine (Gautron et al., 2021 ; Hincke et al., 2014).
Le mécanisme de formation de la coquille dans l'utérus est complexe et mobilise 2 mécanismes importants : la fourniture en continu par le fluide utérin des ions nécessaires à la formation de la coquille, et la sécrétion de protéines, qui assure la régulation de la biominéralisation de la coquille (Gautron et al. 2021)

2. DESCRIPTION DE LA TRANSLUCIDITE

Les œufs translucides sont identifiés grâce à un mirage à la lumière. Des taches blanches voire même des lignes se détachent par rapport au reste de la coquille, plus opaque à la lumière. Ils peuvent être notés sur une échelle de score : Wang et al. (2019) en décrit une à 4 points dans son article (Figure 2).

D'autres méthodes de mesures utilisent le traitement et la reconnaissance d'images pour quantifier la densité, la taille et le nombre de zones claires (Wang et al. 2019) ou la colorimétrie par spectrophotomètre. Même si les méthodes d'imagerie sont plus objectives que la méthode de scoring, l'étude de Wang et al. (2019) conclut que cette dernière peut être utilisée pour classifier les œufs dans les élevages commerciaux.
Les zones les plus claires correspondent à des zones plus humides, alors que les autres parties de la coquille restent opaques au mirage. Solomon (2010) explique que les zones translucides correspondent au transfert de l'humidité de l'œuf à travers les membranes et son accumulation dans la coquille.
Simons (2019) indique 2 causes possibles : une cuticule plus fine par endroits ou une anormalité

dans la structure de la coquille, qui favorise la pénétration de l'eau dans la coquille.

Bramwell (2002) estime que ce changement d'apparence résulte de la séparation légère de la membrane coquillière d'avec la couche calcifiée de la coquille, ce qui fait apparaitre cette « fenêtre » plus claire. La migration de l'eau dans cette partie de la coquille n'entraîne pas selon lui de perte d'eau de l'œuf lui-même.
En raison de cette migration progressive de l'eau dans la coquille, ces phénomènes peuvent être détectés plutôt après quelques jours de stockage. Il peut donc arriver qu'une coquille en apparence sans trace de translucidité ou avec quelques points clairs évolue au bout de 3-4 jours et montre des lignes continues plus claires. Au contraire la progression des vraies fissures n'évolue pas au cours du temps (Liu et al. 2017).
Il est donc recommandé d'évaluer la translucidité des coquilles après quelques jours de stockage, et toujours dans les mêmes conditions d'environnement (température, humidité) afin de limiter la variabilité des réponses.
La plupart des œufs translucides ne sont pas détectés, car les systèmes automatiques de détection des défauts ne les détectent pas, mais l'incidence de ce phénomène peut atteindre 11% selon Roberts et al. (2019).

3. CARACTERISTIQUES DES COQUILLES D'ŒUFS TRANSLUCIDES

Selon les auteurs, les coquilles d'œufs translucides peuvent être plus épaisses, plus fines, ou non différentes des coquilles opaques (Gole et al., 2014 ; Wang et al., 2017), et de manière contre-intuitive, leur résistance à la rupture peut être plus importante que les œufs non translucides (Wang et al. 2017). Wang et al. (2017) ont mis en évidence que les coquilles d'œufs translucides sont plus épaisses et plus résistantes que les coquilles d'œufs opaques, mais présentent des membranes coquillières significativement plus fines. Wang et al. (2017) ont également observé des différences significatives de résistance à la rupture des membranes, montrant que les membranes de coquille translucides étaient moins résistantes à la rupture dans le sens longitudinal que celles de coquilles opaques.

Alors que les pores des coquilles pourraient être la zone d'accumulation visible de l'humidité, il n'existe pas de différences significatives du nombre de pores entre les œufs opaques et translucides (Ray and Roberts, 2013). En revanche, dans cette étude, le nombre de pores traversants semble diminuer avec le score de translucidité, quand le nombre de pores externes est augmenté.
Chousalkar et al. (2010) ont prélevé des morceaux de coquille à fort taux de translucidité et les ont examinés au microscope électronique. Ils ont observé que la couche mamillaire des coquilles translucides présentait des alignements, au contraire des coquilles normales dont les noyaux mamillaires sont disposés aléatoirement. Il a également observé l'érosion et la dépression de la couche mamillaire sur les coquilles translucides, qui pourrait être due à l'accumulation de débris d'oviducte sur les membranes coquillières avant la formation de la couche mamillaire. Des corrélations similaires ont été observées par Roberts et al. (2013) entre la fréquence d'alignement des noyaux mamillaires et le score de translucidité, mais les travaux de ces derniers ont également démontré une corrélation négative entre la présence de membrane résiduelle après dissolution de la coquille par acidification et le score de translucidité (moins de membrane résiduelle pour les œufs les plus translucides). Ce défaut d'attachement de la membrane à la coquille a été récemment évoqué par Benavides-Reyes et al. (2021) en lien avec la diminution de la densité des noyaux mamillaires sur les poules âgées. La translucidité résulterait donc de changements dans la couche mamillaire, probablement en raison des modifications lors de la formation des noyaux mamillaires pendant les premières phases de la formation de la coquille d'œuf. (Chousalkar et al., 2010; Wang et al., 2017; Zhang et al., 2018). Les alignements des noyaux mamillaires constatés sur les coquilles translucides pourraient être également des zones de fragilité de la coquille qui auraient donc finalement pour conséquence d'augmenter l'incidence des microfissures (Bain et al., 2006 ; Roberts et al., 2013). Si des forces mécaniques (même faibles, comme celles occasionnées par les marteaux de détection acoustique) sont exercées sur ces œufs, les lignes blanches peuvent apparaître après 24 heures de stockage (Simons, 2019).
Ces alignements ainsi que les zones d'érosion ou tout du moins la présence d'espaces dans la couche mamillaire (Roberts et al., 2013) pourraient être également être à l'origine d'accumulation d'eau entraînant l'apparition de la translucidité, La taille des mailles du réseau des membranes coquillières pourrait être reliée à la translucidité (Wang et al., 2017). Une technique intéressante de mesure du maillage de la membrane coquillière externe, et utilisée par Berrang et al. (1999) dans un test de pénétration de salmonelles, pourrait permettre de mettre en relation la translucidité et la taille des mailles du réseau de fibres de cette membrane.

4. CONSEQUENCES DE LA TRANSLUCIDITE DES COQUILLES

En dehors des relations précédemment observées entre la translucidité et certains paramètres liés à la coquille comme la résistance à la rupture (qui demande à être confirmée) et l'épaisseur des membranes coquillières, certains auteurs ont étudié

la relation entre la translucidité des coquilles et d'autres paramètres de qualité d'œuf.

1. Fraicheur

Dans l'expérience réalisée par Liu et al. (2017), les unités Haugh permettant de mesurer la fraîcheur de l'œuf ont diminué significativement au bout de 15 jours de stockage à 25°C et 50% d'humidité relative, et de façon plus importante pour les œufs présentant, par ordre décroissant, des microfissures, des lignes blanches marquées, des lignes blanches mineures, ou aucun défaut apparent.
Les pertes en eau ou en poids d'œuf ne diffèrent pas significativement entre les groupes, ce qui pourrait s'expliquer par le fait que la migration d'eau vers la coquille n'est pas associée à une évaporation accrue de l'eau contenue dans l'œuf via les pores de la coquille.

2. Pénétration des bactéries

Les conséquences en termes de pénétration des bactéries sont importantes à prendre en considération en raison de l'impact sur la qualité sanitaire des œufs.
Il y a une tendance à l'augmentation de la pénétration des bactéries *Salmonella Agona* avec la translucidité selon Ray et Roberts (2013). Chousalkar et al. (2010) trouvent une corrélation significative entre la translucidité de la coquille d'œuf et la pénétration de la coquille d'œuf par *Salmonella Infantis* et *E. coli*. Gole et al. (2014) ont montré que sur 5 souches de *Salmonella Typhimurium*, une seule avait un taux de pénétration plus important sur les œufs translucides que les œufs opaques. Ils mettent cependant en évidence une relation entre les alignements des noyaux mamillaires, ou la taille des noyaux, et le taux de pénétration pour au moins 2 types de salmonelles sur 5.

3. Eclosabilité

Bramwell (2002) a réalisé des observations terrain dans 4 fermes de reproducteurs entre 37 et 55 semaines d'âge, dans lesquelles il a sélectionné et mis en incubation 2 groupes d'œufs par ferme identifiés selon leur niveau de translucidité. L'éclosabilité des deux groupes n'a pas été significativement différente, et les pertes en eau étaient également identiques entre les 2 groupes. A l'inverse, selon Butcher et Miles (2007), l'éclosion des œufs peut être réduite de 3 à 14 % lorsque la translucidité de la coquille est importante, en particulier dans les troupeaux de reproducteurs âgés. Hebbink (2018) a trouvé une relation, entre la perte de poids d'oeuf, l'éclosabilité et le degré de translucidité de la coquille des œufs : plus le score de translucidité est important, plus la perte moyenne de poids est élevée et plus l'éclosion des œufs fertiles est faible.
Deux autres études (Barnett et al., 2004 ; Khabisi et al., 2012) montrent des effets très importants de baisse d'éclosabilité sur les œufs présentant des défauts de coquille au mirage, mais qu'ils désignent sous le nom de microfissures (hairline cracks) ; il est donc difficile de les apparenter avec certitude à un simple défaut de translucidité.

5. FACTEURS POUVANT MODULER LA TRANSLUCIDITE

D'après la synthèse de Wang et al. (2019), la translucidité peut être variable en fonction des génétiques, de l'âge des animaux, de l'alimentation et les facteurs environnementaux comme la température et l'humidité. On sait que des facteurs tels que le stress et les maladies chez les poules pondeuses affectent non seulement la synthèse de protéines matricielles, mais ont également un effet négatif sur le positionnement de ces protéines dans la coquille (Butcher et Miles, 2007). Le stress peut être lié à des conditions environnementales (température ou humidité). La vitesse plus ou moins grande du séchage de la cuticule après la ponte, peut être impliquée (Simons, 2019). Par leurs conséquences sur la mesure même de la translucidité, ou par l'effet qu'elles peuvent avoir sur le stress des animaux ou le séchage de la coquille, les conditions de ventilation et de température des bâtiments sont donc à prendre en considération.
La fourniture des nutriments nécessaires à la formation de la coquille, et la régulation de la biominéralisation de la coquille (Gautron et al., 2021) peuvent être affectée également par l'alimentation et la prise alimentaire.
Il est bien connu que toute modification des membranes de la coquille d'œuf par l'inhibition de la formation des fibres ou de la réticulation altère la formation de la coquille et ses propriétés mécaniques (Hincke et al., 2012).
Parmi les éléments utiles à la formation de la membrane et à la calcification de la coquille, les oligoéléments Zn, Cu, et Mn sont souvent cités (Stefanello et al., 2014).
Le Zinc est un cofacteur de l'anhydrase carbonique, qui est impliquée dans la formation de la coquille. Le Manganèse agit comme cofacteur d'enzymes impliqués dans la synthèse des glycosaminoglycanes et glycoproteines, qui contribuent à la formation de la matrice organique. Le Cuivre est une partie intégrante de la lysyl oxydase qui est importante dans la formation du collagène présent dans la membrane (Stefanello et al., 2014). La quantité d'oligoéléments Zn, Cu, Mn ainsi que la source (organique ou inorganique) affectent la taille et la densité des noyaux mamillaires (Zhang et al., 2018 ; Qiu et al., 2020). Il reste à démontrer que par le biais de leur action sur la formation de la membrane coquillière, ces

oligoéléments peuvent moduler le score de translucidité.

CONCLUSION

La translucidité de la coquille d'œuf est un problème de qualité qui affecte principalement l'apparence de l'œuf mais peut aussi avoir des conséquences sur la coquille, notamment sa solidité et ses capacités à protéger l'œuf contre les contaminations microbiennes. Elle concerne aussi bien les œufs de consommation que les œufs à couver. Son apparition pourrait être liée à des anomalies de la formation de la membrane coquillière au stade précoce de formation de l'œuf. Des travaux complémentaires sont nécessaires pour confirmer ou infirmer certaines hypothèses sur le lien entre la translucidité et la qualité de la coquille.

Figure 1 : Constitution de la coquille d'œuf (d'après Gautron et al. 2021)

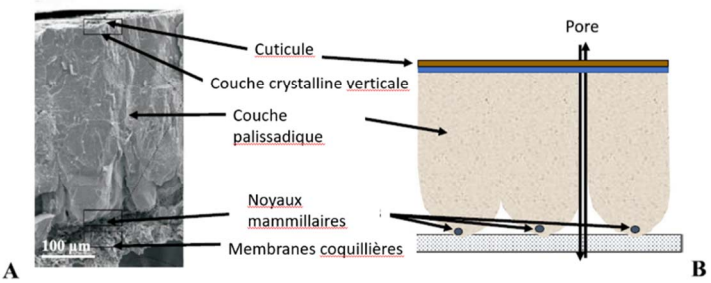
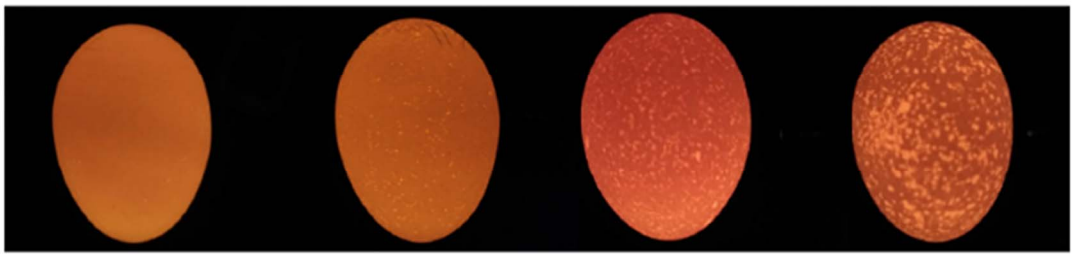


Figure 2 : Echelle de score selon Wang et al 2019 (de gauche à droite : 1 opaque à 4 très translucide)



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aviagen. n.d. "Pocket Guide Hatching Egg Shell Quality Assessing Abnormalities."

Bain, M M, N Macleod, R Thomson, and J W Hancock. 2006. *Poultry Science* 85: 2001–8.

Barnett, D. M., B. L. Kumpula, R. L. Petryk, N. A. Robinson, R. A. Renema, and F. E. Robinson. 2004. *Journal of Applied Poultry Research* 13 (1): 65–70..

Benavides-Reyes, C., E. Folegatti, N. Dominguez-Gasca, G. Litta, E. Sanchez-Rodriguez, A. B. Rodriguez-Navarro, and M. Umar Faruk. 2021*Poultry Science* 100 (101287).

Berrang, M.E., J.F. Frank, R.J. Buhr, J S. Bailey, and N.A. Cox. 1999. *Journal of Food Protection*. Vol. 62.

Bramwell R.K. 2002. *Poult. Sci.* 81 (Suppl 1 (69)).

Butcher, G.D., and R.D. Miles. 2007. *Wattpoultry.Com*.

Chousalkar, K. K., P. Flynn, M. Sutherland, J. R. Roberts, and B. F. Cheetham. 2010. *International Journal of Food Microbiology* 142 (1–2): 207–13.

Gautron, J., L. Stapane, N. le Roy, Y. Nys, A. B. Rodriguez-Navarro, and M. T. Hincke. 2021. *BMC Molecular and Cell Biology*. BioMed Central Ltd.

Gole, Vaibhav C., Kapil K. Chousalkar, Juliet R. Roberts, Margaret Sexton, Damian May, Jessica Tan, and Andreas Kiermeier. 2014. *PLoS ONE* 9 (3):

Hebbink L. 2018. Www.Passreform.Com. 2018.

Hincke, M.T., Y. Nys, J. Gautron, and A.B. Rodriguez-Navarro. 2012. *Frontiers in Bioscience* 17: 1266–80.

Ketta, M., and E. Tůmová. 2016. *Czech Journal of Animal Science*. Czech Academy of Agricultural Sciences.

Khabisi, M., A. Salahi, and S. Mousavi. 2012*Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 36 (3): 289–95.

Liu, Y.C., T.H. Chen, Y.C. Wu, and F.J. Tan. 2017. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 30 (7): 1013–20.

Qiu, J. L., Q. Zhou, J. M. Zhu, X. T. Lu, B. Liu, D. Y. Yu, G. Lin, T. Ao, and J. M. Xu. 2020. *Poultry Science* 99 (3): 1483–90.

Ray, A, and J R Roberts. 2013. In . Aust. Poult. Sci. Symp.

Roberts, J.R., C. Brackpool, W. Ball, M. Ball Editor, and W. Williams. 2019. Wayne Williams.

Roberts, J. R., K. Chousalkar, and Samiullah. 2013. *Animal Production Science* 53 (12): 1291–97.

Simons, Piet. 2019. *Egg Signals*. Roodbont Publishers.

Solomon, S. E. 2010. *British Poultry Science* 51 (SUPPL. 1): 52–59.

Stefanello, C., T. C. Santos, A. E. Murakami, E. N. Martins, and T. C. Carneiro. 2014. *Poultry Science* 93 (1): 104–13.

Wang, D.H., H. Chen, R.Y. Zhou, C.X. Huang, H.X. Gao, B.L. Fan, g.J Liu, and Z.H. Ning. 2019. *Poultry Science* 98 (12): 6677–83.
Wang, D.H., Y.J. Li, L. Liu, J.S. Liu, M. Bao, N. Yang, h. Zhuo-Cheng, and Z.H. Ning. 2017. *Poultry Science* 96 (2): 351–58.
Zhang, Y. N., H. J. Zhang, S. G. Wu, J. Wang, and G. H. Qi. 2018. *Poultry Science* 97 (4): 1253–62.

CONTROLE DE LA CALCIFICATION DE LA COQUILLE SELON DIFFERENTES SOURCES DE VITAMINE D3 : REGULATION DES TRANSFERTS DE CALCIUM ET DES PROTEINES DE LA MATRICE ORGANIQUE DANS L'UTERUS

Joël Gautron[1], Alice Boinet[1], Jean-Marc Thoby[2], Elisa Folegatti[3], Valérie Labas[4-5], Daniel Tomas[4-5] , Vérane Gigaud[2]

[1] INRAE, UMR BOA, Université de Tours, 37380 NOUZILLY, France,
[2] DSM, DSM Nutritional Products France, 92 250 LA GARENNE-COLOMBES, FRANCE
[3] DSM, DSM Nutritional Products Europe AG, 4303 Kaiseraugst, Switzerland
[4] INRAE, CNRS, Université de Tours, IFCE, UMR PRC, 37380 NOUZILLY, France
[5] INRAE, Université de Tours, CHU de Tours, plate-forme PIXANIM, 37380 NOUZILLY
joel.gautron@inrae.fr

RÉSUMÉ

La coquille d'œuf de poule est un biominéral complexe composé de 95 % de carbonate de calcium et de 3,5 % de matrice organique qui influence sa structure et ses propriétés mécaniques. Le calcium nécessaire à sa formation est précisément régulé et stocké par différents organes pour permettre la biominéralisation de la coquille de l'oiseau. Le rôle de la vitamine D et de ses métabolites reste peu étudié au niveau de l'utérus où se produit la calcification de l'œuf. Dans cette étude, nous avons étudié l'impact de la vitamine D3 (Cholécalciférol) et de sa forme intermédiaire hydroxylée (25-hydroxycholécalciférol) sur les mécanismes de formation de la coquille dans l'utérus de poule.
Pour ce faire, nous avons nourri des poules de souche chair avec les 2 formes de vitamine D3 à des doses équivalentes, soit 3200 UI. L'analyse de l'expression des gènes dans l'utérus montrent que 34 gènes, codant pour les transporteurs d'ions qui permettent l'apport des minéraux nécessaires à la formation de la coquille, et 13 gènes codant les protéines de la matrice organique, sont significativement surexprimés, lorsque les oiseaux étaient nourris avec la 25-OH-D3. Les protéines de la matrice organique de la coquille ont été quantifiées par protéomique quantitative et l'utilisation de la forme hydroxylée a montré des différences significatives dans l'abondance de 55 protéines de la matrice organique associées à la biominéralisation.
En conclusion, la vitamine D3 est un acteur important de la biominéralisation de la coquille d'œuf aviaire et sa forme d'apport va influencer directement la structure et les propriétés mécanistiques de ce biomatériau.

ABSTRACT

Control of shell calcification with different sources of vitamin D3 supply: Regulation of calcium and organic matrix protein transfers in the uterus

The hen's eggshell is a complex biomineral composed of 95% calcium carbonate and 3.5% organic matrix that influences its structure and mechanical properties. The calcium required for its formation is precisely regulated and stored by different organs to allow the biomineralisation of the bird's shell. The role of vitamin D and its metabolites in the uterus, where egg calcification occurs, remains poorly studied. In this study, we investigated the impact of vitamin D3 (cholecalciferol) and its hydroxylated intermediate form (25-hydroxycholecalciferol) on the mechanisms of shell formation in the hen uterus.
To do this, we fed broiler hens with both forms of vitamin D3 at equivalent doses of 3200 UI. Analysis of gene expression in the uterus showed that 34 genes encoding ion transporters that provide the minerals required for shell formation and 13 genes encoding organic matrix proteins were significantly overexpressed. The shell organic matrix proteins were quantified by quantitative proteomics and the use of hydroxylated form showed significant differences in the abundance of 55 organic matrix proteins associated with biomineralisation.
In conclusion, vitamin D3 is an important player in the biomineralisation of the avian eggshell and its form of delivery will directly influence the structure and mechanistic properties of this biomaterial.

INTRODUCTION

La coquille d'œuf de poule est un biominéral complexe composé de 95 % de carbonate de calcium sous forme de calcite et de 3,5 % de matrice organique qui influence sa structure et ses propriétés mécaniques. Il s'agit de l'un des processus de biominéralisation les plus rapides sur terre, avec environ 6 g de biominéraux déposés en l'espace de 20 heures. Le calcium nécessaire à sa formation provient de l'alimentation, mais il existe une désynchronisation entre l'apport alimentaire (le jour) et la minéralisation de la coquille (la nuit) qui se produit lorsque la poule ne peut pas s'alimenter. Le calcium est donc précisément régulé et stocké par différents organes pour permettre la biominéralisation de la coquille de l'oiseau. Si le rôle de la vitamine D est bien connu pour permettre les apports de calcium au niveau intestinal et osseux, le rôle de la vitamine D et de ses métabolites reste peu étudié au niveau de l'utérus où se produit la calcification de l'œuf. Dans cette étude, nous avons étudier l'impact de la vitamine D3 (Cholécalciférol) et de sa forme intermédiaire hydroxylée (25-hydroxycholécalciférol) sur les mécanismes de formation de la coquille dans l'utérus de poule.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Elevage des animaux et recueil des échantillons biologiques

Deux lots de 100 poules de type chair Ross 308 ont été nourries avec le même régime alimentaire depuis le jour de la naissance. Seule la forme de vitamine D ajoutée dans l'aliment était différente. Le groupe témoin (T) contenait 3200 UI de vitamine D3, alors que la forme hydroxylée de la vitamine D3 (HyD, 25-OH-D_3) a été donnée aux animaux du second groupe (H) pendant 2 mois. Un total de 60 œufs a été recueilli entre 32 et 34 semaines dans chacun des groupes expérimentaux. A 35 semaines environ, 12 poules de chacun des groupes (T ou H) ont été sacrifiées afin de recueillir le tissu utérin où se produit la calcification de la coquille.

1.2. Extraction des protéines et des ARN

Après avoir éliminé le contenu interne de l'œuf, les coquilles ont été lavées pour enlever toutes traces de blanc. Une fois sèches, les coquilles sont broyées et regroupées en 12 pools de 5 coquilles par groupe (T et H). Les protéines de la matrice organique ont été extraites comme décrits précédemment (Gautron et al., 2001). Après extraction des ARN totaux et contrôle de leurs qualités, les ARNs ont été transcrits en ADNc.

1.3. Expression des gènes dans l'utérus et quantification des protéines dans la coquille

Les ADNc ont été utilisées pour mesurer l'expression d'un total de 91 gènes par RT-PCR quantitative à l'aide d'un thermocycleur en temps réel ROCHE LC 480 et par technologie Benchmark Fluigdim. Après vérification des duplicats et des Tm, l'expression des gènes a été normalisée à l'aide du logiciel GeNORM en utilisant 4 gènes de référence.

Les protéines de la coquille ont été séparées en bande unique et les protéines digérées par la trypsine. Les peptides ont été séparés par nanoLC avant d'être analysés par spectrométrie de masse en tandem (ou MS/MS) sur un LTQ Velos Orbitrap. Les protéines ont ensuite été identifiées et validées par les logiciels Mascot et Scaffold 3 par comparaison des peptides obtenus expérimentalement à ceux issus des banques de données. Les protéines ont été également quantifiées afin de déterminer l'abondance de chacune des protéines dans la coquille selon la forme de vitamine D.

L'analyse statistique des valeurs quantitatives de l'expression des gènes et de l'abondance des protéines a été réalisée par un test t à 2 échantillons à l'aide du logiciel minitab.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Si le calcium contenu dans la coquille des œufs provient entièrement de l'aliment, il existe une désynchronisation entre le besoin en calcium pour la formation de la coquille durant la nuit et l'apport alimentaire de ce calcium durant la journée. Pour ce faire, la poule possède une structure osseuse particulière, l'os médullaire qui sera mobilisé durant la période nocturne pour fournir une partie du calcium nécessaire à la calcification de la coquille. Au cours de la journée, lorsque la poule a accès à son aliment, la partie médullaire de l'os sera de nouveau minéralisée (Nys et al., 2021). La régulation du métabolisme calcique lors de la formation de la coquille chez la poule implique de nombreux organes. Tout d'abord l'intestin, qui permettra le transfert du calcium vers l'os et l'utérus, via la circulation sanguine. Il implique également l'utérus, qui devra transférer au niveau du site de calcification (fluide utérin), de grandes quantités de calcium nécessaire à la formation de la coquille tout en maintenant l'homéostasie cellulaire. La vitamine D et notamment son métabolite actif ($1.25(OH)_2D_3$), va jouer un rôle crucial dans la régulation des transferts de calcium au niveau intestinal et osseux. Son rôle au niveau utérin a été peu exploré, mais pourrait également être impliqué au niveau des mécanismes de transferts du calcium, mais également dans la régulation des protéines de la matrice organique qui donnent à la coquille son ultrastructure déterminant ses propriétés mécaniques (Gautron et al., 2021). La vitamine D est tout d'abord hydroxylée en 25-hydroxycholécalciférol (25-OH-D_3) au niveau du foie avant d'être hydroxylée en $1.25(OH)_2D_3$ au niveau rénal (Christakos. et al, 2010). L'utilisation de la forme hydroxylée (25-OH-D_3) dans

l'aliment présente un avantage métabolique en évitant l'étape hépatique initiale et permettrait une meilleure disponibilité du métabolite intermédiaire de la vitamine D. Dans cette étude, nous avons nourris les animaux avec la vitamine D3 et cette forme hydroxylée afin de répondre à deux questions : 1) Est-ce que l'utérus et la minéralisation de la coquille sont dépendant de la vitamine D ? 2) Est-ce que la forme d'apport régule les apports de calcium utérin et la biominéralisation de la coquille ?

Le niveau d'expression dans l'utérus a été analysé pour 91 gènes. Parmi ceux-ci 17 gènes codent des protéines de la matrice organique connues pour jouer un rôle prépondérant lors de la minéralisation de la coquille et 65 codent pour des transporteurs de calcium de bicarbonates et autres ions nécessaires à la minéralisation. Parmi ces derniers, 21 codent pour des protéines de transport paracellulaire et 44 permettent les transferts transcellulaires. Les tableaux 1 et 2 présentent les 48 gènes présentant une variation d'expression significative dans l'utérus des poules nourries avec les deux formes de vitamine D. Il est particulièrement notable d'observer que la totalité de ces gènes est stimulée par le 25-OH-D3.

Parmi les gènes impliqués dans le transfert des ions, on retrouve 22 gènes impliqués dans les transferts actifs transcellulaires au travers les pôles basal et apical et via le cytosol de la cellule utérine. Les gènes permettant, soit la fixation sur la membrane du calcium pour permettre son transfert actif, soit son stockage et/ou son transport cytosolique sont les plus représentées (18/22). Les 4 autres gènes de la voie transcellulaire sont impliqués dans la synthèse ou le transport des bicarbonates qui donneront des carbonates formant avec le calcium, le carbonate de calcium de la coquille. Il est également à noter que 5 de ces gènes présentent des séquences régulatrices de la vitamine D au niveau des promoteurs, en cohérence avec une surexpression de VDR ($p=0.052$) dans l'utérus de la poule.

La voie paracellulaire de transports des ions dans l'utérus a fait l'objet de controverses (Nys et al., 2021). Une étude récente semble confirmer une implication de la voie paracellulaire lors de la calcification, pour maintenir l'homéostasie cellulaire (Stapane et al., 2020). Dans ce contexte l'observation d'une surexpression de 12 gènes de la voie paracellulaire en présence de 25-OH-D3 semble conforter l'hypothèse d'un rôle de cette voie lors de la minéralisation de l'œuf.

Les mesures d'expression mettent aussi en évidence une surexpression de 13 gènes codant des protéines de la matrice organique impliqués dans le processus de minéralisation et la détermination des propriétés mécaniques de la coquille. Parmi celle-ci, on notera une surexpression du gène codant OC-17 qui est la première protéine spécifique de la coquille à avoir été identifiée et séquencée (Hincke et al., 1995). Cette protéine abondante (40µg/g de coquille) est concentrée et surabondante dans les couches où la coquille est initiée (Hincke et al., 1995, Marie et al., 2015). L'interaction d'OC-17 avec le carbonate de calcium de la coquille a été démontrée *in vivo* et *in vitro* (Freeman et al., 2011, 2012, 2015 ; Reyes - Grajeda et al., 2004).

Parmi ces protéines, on observe également une surexpression de l'OCX-32, une protéine abondante dans les couches internes et externes de la coquille (Gautron et al., 2001) et dont les polymorphismes sont associés à la solidité de la coquille (Gautron et al., 2021). On observe aussi une surexpression du gène codant EDIL3, pour laquelle un rôle dans le transfert vésiculaire du carbonate de calcium amorphe vers le site de minéralisation a été récemment décrit (Stapane et al., 2019, 2020). L'ensemble des autres protéines dont le gène est surexprimé en présence de 25-OH-D3 présentent aussi un rôle démontré ou prédit lors des différentes étapes de calcification de la coquille (Gautron et al., 2021).

L'analyse par protéomique quantitative a également permis d'identifier et caractériser 125 protéines de la coquille, dont 52 présentent des surabondances et des sous abondances dans la coquille lorsque les poules sont nourries avec du 25-OH-D3. Un travail bio-informatique est en cours pour caractériser leurs rôles potentiels dans les déterminants de la solidité de la coquille et leur régulation par la vitamine D.

CONCLUSION

Cette étude met clairement en évidence que la vitamine D joue un rôle important dans la régulation des transferts du calcium et des minéraux dans l'utérus de la poule. Ce rôle n'étant donc pas limité aux transferts du calcium dans l'intestin et l'os comme décrit auparavant. Par ailleurs, cette étude montre que l'utilisation de la forme hydroxylée de la vitamine D3 sous la forme de 25-OH-D3 permet une surexpression de nombreux gènes impliqués dans les voies paracellulaires, vésiculaires et paracellulaires de transfert du calcium, ainsi qu'une surexpression des gènes codant les protéines de la matrice organique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Christakos S, Dare V. Ajibade, B.A., Puneet D., Adam J. F, Leila J. Mady, B.A. Endocrinol Metab Clin North Am. 2010 June ; 39(2): 243–253.
Freeman CL, Harding JH, Quigley D, Rodger PM., 2011. J Phys Chem, 115.
Freeman CL, Harding JH, Quigley D, Rodger PM.,2012. Phys Chem Chem Phys, 14.
Freeman CL, Harding JH, Quigley D, Rodger PM., 2015. Phys Chem Chem Phys 2015, 17.
Gautron J, Hincke MT, Mann K, Panhéleux M, Bain M, McKee MD, Solomon SE, Nys Y, 2001 J Biol Chem, 276(42):39243-39252.
Gautron, J., Stapane, L., Le Roy, N., Nys, Y., Rodriguez-Navarro, A.B., Hincke, M.T., 2021 BMC Molecular and Cell Biology, BioMed Central, 2021, 22 (1)
Hincke MT, Tsang CP, Courtney M, Hill V, Narbaitz R., 1995. Calcif Tissue Int, 56(6):578-583.
Marie P, Labas V, Brionne A, Harichaux G, Hennequet-Antier C, Rodriguez-Navarro AB, Nys Y, Gautron J, J Proteomics, 126:140-154.
Nys, Y., Gautron, J., Rodriguez-Navarro, A.B., Hincke, M.T., 2021. In: Sturkie's Avian Physiology. 7th Edition, 2021, 9780128197707; 9780323853514
Reyes-Grajeda JP, Moreno A, Romero A., 2004. J Biol Chem, 279(39):40876-40881.
Stapane L, Le Roy N, Hincke MT, Gautron J., 2019. J Biol Chem, 294(40):14526-14545.
Stapane L, Le Roy N, Ezagal J, Rodriguez-Navarro AB, Labas V, Combes-Soia L, Hincke MT, Gautron J., 2020. J Biol Chem, 295(47): 15853–15869.

Tableau 1. Variation d'expression des gènes impliqués dans la biominéralisation de la coquille

				Niveau expression		
	Symbole de gènes	**ID du gène**	**Rôle**	**Vitamine D3**	**25-OH-D3**	**P-Value**
Gènes codant des protéines de la matrice organique (Minéralisation coquille)	**CST3**	396497	Régule les protéines guidant la minéralisation (inh protéases)	2.25	4.42	**0,003**
	EDIL3	427326	Fixation du calcium	1.83	3.77	**0,001**
	HAPLN3	415495	Protéoglycanes et protéines de liaison aux protéoglycanes	1.55	3.76	**0,013**
	HPX	419076	Fixation calcium	2.63	7.76	**0,005**
	ITGB1	374058	Formation de nodules osseux minéralisés	1.43	3.08	**0,002**
	ACCP	428451	Minéralisation dépend du degré de phosphorylation	1.50	3.49	**0,000**
	MFGE8	415494	Fixation calcium	1.24	3.71	**0,000**
	NUCB2	423071	Fixation calcium	1.39	2.96	**0,000**
	OC17	100313508	Processus de minéralisation (rôle direct)	1.60	2.82	**0,042**
	OCX21	419515	Régule les protéines guidant la minéralisation (molécule chaperonne)	1.34	4.66	**0,002**
	OCX25	771972	Régule les protéines guidant la minéralisation (inh protéases)	1.23	2.44	**0,000**
	OCX32	395209	Régule les protéines guidant la minéralisation (inh protéases)	1.28	2.70	**0,000**
	PPIB	396447	Régule les protéines guidant la minéralisation (molécule chaperonne)	2.42	6.00	**0,000**

Tableau 2. Variation d'expression des gènes impliqués dans le transfert des ions lors de la formation de la coquille

				Niveau expression		
	Symbole de gènes	**ID du gène**	**Rôle**	**Vitamine D3**	**25-OH-D3**	**P-Value**
transfert Ca paracellulaire	**CACNA2D1**	768444	Régulation du transport transmembranaire des ions calcium	1.76	3.22	**0,002**
	CLDN1	424910	Adhésion cellule-cellule indépendante du calcium	2.08	5.01	**0,016**
	CLDN2	422292	Adhésion cellule-cellule indépendante du calcium	3.62	9.04	**0,003**
	CLDN12	771872	Adhésion cellule-cellule indépendante du calcium	1.98	4.16	**0,000**
	F2R	427212	Régulation du calcium	1.95	3.48	**0,001**
	GRIN2A	427678	Canal ionique calcique	3.99	7.98	**0,023**
	JAM2	418476	Molécule d'adhésion jonctionnelle	1.52	2.77	**0,000**
	P2RX7	771952	Transfert calcium paracellulaire	1.70	4.83	**0,001**
	ATP6V1B2	395497	Transport transmembranaire de protons	1.38	3.20	**0,000**
	ZO1 (TJP1)	415388	Protéine à jonction étroite	1.56	4.24	**0,002**
	ZO2 (TJP2)	395751	Protéine à jonction étroite	1.05	3.87	**0,000**
	ZO3 (TJP3)	420070	Protéine à jonction étroite	1.48	4.84	**0,000**
Vit D	**VDR**	395988	Récepteur vitamine D3			**0,052**
transfert Ca transcellulaire	**ANXA5**	428767	Fixation/transport du calcium/canal calcique	2.14	4.35	**0,003**
	ATP2A2	396446	Transfert calcium par le RE	1.32	3.14	**0,000**
	ATP2B4	419934	Transfert calcium **VDR response element**	1.18	3.3	**0,000**
	CA2	396257	Carbonate déshydratase **VDR responsive element**	1.80	3.76	**0,008**
	CA9	770004	Carbonate déshydratase/régulation intracelulaire du calcium/ **VDR responsive element**	0.95	3.4	**0,000**
	CALM1	396523	Stockage ion calcium	1.78	3.47	**0,009**
	ITPR1	395412	Canal calcique (RE)	1.99	6.20	**0,018**
	ITPR2	418212	Canal calcique (RE)	1.64	3.61	**0,001**
	ITPR3	419910	Canal calcique (RE) **VDR response element**	1.37	3.22	**0,024**
	MAPK3	373953	Canal calcique (RE)	1.57	3.19	**0,000**
	PDIA3	373899	Fixation du calcium	1.28	3.38	**0,000**
	PLCG1	419175	Fixation du calcium	2.47	8.66	**0,008**
	PLN	396378	Canal calcique (RE)	2.50	6.41	**0,006**
	RYR1	396112	Canal calcique (RE)	1.52	3.29	**0,000**
	RYR2	421508	Canal calcique (RE)	3.69	14.08	**0,036**
	SLC4A4	422649	Transport de bicarbonate**VDR responsive element**	1.14	3.17	**0,008**
	SLC4A7	420658	Transport de bicarbonate	1.44	2.49	**0,000**
	CRACR2B	423106	Fixation calcium	0.96	2.97	**0,000**
	TRPC1	424776	Canal calcique/régulation de la concentration en ions calcium cytosolique	1.55	2.78	**0,000**
	TRPC4	418895	Importation et transport transmembranaire des ions calcium	0.97	2.27	**0,005**
	TRPM7	427502	Canal calcique	1.32	2.58	**0,000**
	TRPV2	417603	Canal calcique/régulation positive de l'importation d'ions calcium	1.16	3.11	**0,003**

CONSEQUENCES DE L'ALLONGEMENT DE LA PERIODE DE PONTE DES POULES PONDEUSES SUR LA QUALITE DES ŒUFS

Bourin Marie[1], Travel Angélique[1], Souchet Christophe[1], Bernard Jérémy[2], Ledru Emmanuel[2], Bernardet Nelly[3], Jimenez Justine[3], Chessé Magali[3], Réhault-Godbert Sophie[3], Guyot Nicolas[3]

[1] ITAVI, 37380, NOUZILLY, France
[2] INRAE, PEAT, 37380, NOUZILLY, France
[3] INRAE, Université de Tours, UMR BOA, 37380, NOUZILLY, France
bourin@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

La qualité de l'œuf est sous l'influence de différents facteurs, tels que l'âge des poules et les conditions de stockage, qui peuvent avoir des conséquences sanitaires et économiques importantes. La maitrise de la qualité de l'œuf est donc un enjeu majeur pour la filière « œuf de consommation ». Les progrès de la sélection génétique sur la qualité et la production des œufs ont permis d'allonger le cycle de ponte des poules, ce qui s'inscrit également dans une perspective de durabilité des élevages des poules pondeuses. Ainsi, la période de production d'œufs qui était d'environ un an, a été prolongée de 6 mois (+ 150 œufs/poule pondus). Cependant, il existe relativement peu d'informations disponibles sur les conséquences de cet allongement du cycle de ponte sur la qualité des œufs de consommation et sur son évolution au cours du stockage. Les résultats de notre étude réalisée sur des poules Lohmann Tradition élevées jusqu'à 101 semaines d'âge, ont montré une diminution du taux de ponte (-30% entre 45 et 101 semaines d'âge) et une augmentation du poids moyen des œufs (+7%) au cours du cycle de ponte. Cette augmentation de poids est essentiellement liée à l'augmentation du poids du jaune (+13%) et du blanc (+7%) de l'œuf alors que le poids de la coquille diminue légèrement sur la période étudiée (-6%). Plusieurs autres paramètres de qualité sont significativement diminués avec l'âge des animaux, notamment la solidité de la coquille (-24%), l'indice de jaune (-5%) et les unités Haugh (-7%). Ces données de suivi d'élevage apparaissent tout à fait cohérentes avec les résultats attendus. Les œufs provenant des poules de 30-32, 70-74 et 94-100 semaines d'âge ont été stockés de 0 à 28 jours puis caractérisés. Comme attendu, la durée de stockage influe sur la qualité interne de l'œuf mais la cinétique de dégradation de la qualité interne des œufs est similaire chez les poules de 94-100 semaines d'âge en comparaison des poules plus jeunes (30-32 et 70-74 semaines). D'autres analyses sont en cours (tests antimicrobiens, analyses protéomiques…). Les résultats des différentes analyses seront intégrés afin d'avoir une vision approfondie des effets de l'allongement du cycle de ponte sur l'état de santé général des poules et les caractéristiques physicochimiques et moléculaires de l'œuf.

ABSTRACT

Effects of lengthening the laying period of laying hens on egg quality

Egg quality is influenced by various factors, such as the hen age and the egg storage conditions, which may have significant sanitary and economic consequences. Controlling egg quality is therefore a major challenge for the table egg industry. Progress in genetic selection for egg quality and production has made possible to lengthen the laying cycle of hens, which is also in line with the sustainability of laying farms. For example, the egg production period, which used to last about one year has been extended by six months (+ 150 eggs/hen). However, there is relatively little information available on the consequences of such an extension on the quality of table eggs and its evolution during storage. Results of our study on Lohmann Tradition hens reared to 101 weeks of age showed a decrease in laying rate (-30% between 45 and 101 weeks of age) and an increase in average egg weight (+7%) during the laying cycle. This increase in weight mainly results from the increase in yolk weight (+13%) and albumen weight (+7%), while the shell weight decreased slightly over the studied period (-6%). Several other quality parameters decreased significantly with hen age, notably shell strength (-24%), yolk index (-5%) and Haugh units (-7%). These livestock monitoring data are fully consistent with the expected results. Eggs from hens of 30-32, 70-74 and 94-100 weeks of age were stored from 0 to 28 days and then characterized. As expected, the storage time influences the internal egg quality, but the degradation kinetics of the internal egg quality do not seem to differ when comparing 94-100-week old hens to younger hens (30-32 and 70-74 weeks). Additional analyses are in progress (antimicrobial assays, proteomics, etc.). The results of these analyses will be integrated in order to have an in-depth view of the effects of the lengthening of the laying cycle on the overall health of hens, and on physicochemical and molecular egg characteristics.

INTRODUCTION

L'œuf est un aliment de base de la nutrition humaine et est reconnu depuis longtemps comme une source de protéines de haute qualité. Contrairement à la viande, cette protéine d'origine animale est abordable et sa production est d'un moindre coût. De fait, la production d'œufs ne cesse d'augmenter dans le monde. En France, 14,3 milliards d'œufs de table ont été produits en 2016 (rang 1 de l'UE-28) et la consommation moyenne est d'environ 220 œufs par habitant et par an, dont 40% sous forme d'ovoproduits (ITAVI, 2017). Les œufs représentent donc un marché économique important en France et le maintien ou l'amélioration de la qualité et de la sécurité alimentaire des œufs est une préoccupation majeure pour la filière et les consommateurs. L'œuf est caractérisé par des défenses naturelles sophistiquées pour lutter contre les microorganismes (Hincke et al, 2019). Lorsque l'œuf est de haute qualité (sans détérioration détectable de la coquille notamment), il peut résister efficacement aux microorganismes sur une période prolongée et ce, même à température ambiante, grâce à la diversité et la complémentarité de ses défenses antimicrobiennes. Ces défenses naturelles reposent sur la coquille (barrière physique), sur les nombreuses molécules antimicrobiennes actives contenues dans le blanc d'œuf, sur des propriétés physicochimiques spécifiques (viscosité et pH du blanc d'œuf) et sur l'intégrité de la membrane vitelline (MV), une couche protéique entourant le jaune d'œuf. L'intégrité de tous ces systèmes de protection garantit la qualité de l'œuf, et peut être évaluée par la mesure de paramètres de qualité spécifiques de ses différents composants. Plusieurs facteurs associés à la physiologie de la poule (âge, nutrition, ...) ou aux conditions de stockage des œufs (durée, température) peuvent altérer la qualité des œufs. Les conditions de stockage des œufs affectent principalement les paramètres de qualité interne des œufs tandis que l'âge de la poule réduit principalement la résistance de la coquille (Roberts, 2014). Dans les élevages commerciaux, le cycle de ponte de la poule commence à la maturité sexuelle (16-20 semaines d'âge) et les poules sont élevées pendant environ un an, jusqu'à 70-75 semaines d'âge, essentiellement pour des raisons économiques : le coût de l'alimentation représente 60 à 75% du coût total de production et maintenir des poules plus âgées avec des taux de ponte plus faibles est trop coûteux. La sélection génétique visant à augmenter la persistance de la production d'œufs permet actuellement de garder les poules pendant une plus longue période de production et on s'attend à ce que, d'ici quelques années, les pondeuses commerciales produisent environ 500 œufs au cours d'un cycle de production d'un an et demi sans mue (100 semaines d'âge), mais avec des effets négatifs potentiels sur la qualité des œufs (Bain et al., 2016). En effet, l'augmentation du poids des œufs observée au cours du cycle de ponte est associée à une diminution marquée de la qualité de la coquille et, dans une moindre mesure, de la qualité interne de l'œuf. Bien que les bénéfices d'un tel allongement soient à la fois environnementaux et économiques (réduction du cheptel reproducteur national et de l'alimentation associée, augmentation des revenus des producteurs d'œufs), les incidences de cette évolution sur la qualité globale des œufs et sur le niveau de détérioration au cours du stockage des œufs restent méconnues.

L'objectif principal de notre étude est de caractériser l'effet de l'âge de la poule sur la qualité des œufs, et son évolution pendant leur conservation à 20°C de 0 à 28 jours.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Les animaux

Deux lots de 150 poules pondeuses Lohmann Tradition ont été mis en place au Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (PEAT, INRAE Nouzilly) et élevés au sol pour la production d'œufs de 17 à 50 semaines d'âge (jeunes poules : JP) et de 33 à 101 semaines d'âge (vieilles poules : VP) respectivement, entre janvier 2020 et mars 2021. Le bon déroulement de l'élevage a été vérifié grâce au suivi régulier des animaux (poids, consommation alimentaire) pendant toute la période concernée. Les lots de JP et VP ont été placés chacun dans un parquet de 30 m² (6 x 5 m) dont le sol était recouvert d'une litière de copeaux. Les parquets étaient équipés de mangeoires et abreuvoirs en nombre suffisant (4 cm/poule de mangeoire circulaire et 1 pipette/10 poules), ainsi que de perchoirs (15 cm par poule).

La mortalité des poules et leur consommation en aliments ont été suivis durant toute la période d'élevage. La qualité des œufs a été évaluée toutes les 2 semaines sur la totalité de la période d'élevage pour les JP et les VP.

1.2. Stockage des œufs

Les effets du stockage ont été étudiés sur des œufs du lot JP à 30-32 semaines d'âge (n=100) et sur des œufs du lot VP à 70-74 (n=100) et 94-100 semaines d'âge (n=100). Pour chaque période étudiée, la qualité des œufs a été mesurée sur des œufs frais du jour de ponte (n=40), ou stockés pendant 7 (n=20), 14 (n=20) et 28 (n=20) jours dans une enceinte climatique (type ICH260, Memmert, Schwabach, Allemagne) réglée à 20°C et 50% d'humidité relative.

1.3. Mesures de qualité des œufs

Différents critères de qualité ont été évalués sur les œufs. Les dimensions des œufs (longueur, largeur) ont été déterminées à l'aide d'un pied à coulisse électronique (MITUTOYO 500-162-30 ABSOLUTE Digimatic). Le poids des œufs, la résistance et l'épaisseur de la coquille, les unités Haugh, l'indice et la couleur du jaune ont été mesurés à l'aide d'un appareillage dédié (Digital Egg Tester, DET6000,

NABEL, Japan). Le poids du jaune a été déterminé à l'aide d'une balance (Sartorius, 2200g / 0.01g classe II).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. La qualité des œufs frais

La qualité des œufs des poules a été évaluée tous les 15 jours. Les résultats des points extrêmes sont présentés pour les lots de JP et de VP (Tableau 1).
Le poids des œufs augmente de façon significative en début de ponte (+32 % entre la S21 et S44) pour se stabiliser en fin de ponte chez les vieilles poules (+7 % entre la S45 et S101). Cette augmentation de poids est essentiellement liée à l'augmentation du poids du jaune et du blanc qui ont pour conséquence l'augmentation de la longueur des œufs tout au long du cycle de ponte (+16 %) mais aussi celle de la largeur des œufs qui augmente assez fortement en début de ponte (+9 % entre la S21 et S44) puis se stabilise en milieu et fin de ponte (+1% entre la S45 et S101). Ainsi l'âge de la poule influence le poids mais également la forme de l'œuf.
Le poids du blanc augmente aussi assez fortement en début de ponte (+26% entre la S21 et S44) pour se stabiliser en milieu et fin de ponte (+7% entre la S45 et S101). Les unités Haugh diminuent avec l'âge des poules (-14% sur le cycle complet), le blanc est plus liquide et s'étale, ce qui est considéré comme le signe d'une diminution de la qualité de l'œuf.
Le poids du jaune, quant à lui, augmente tout au long du cycle de ponte (+70%). L'indice de jaune (rapport de la hauteur sur le diamètre du jaune positionné sur une surface plane) diminue au cours du cycle de ponte (-10%) et pourrait illustrer une diminution de la résistance de la membrane vitelline.
En ce qui concerne la coquille, nous avons observé que son poids augmente assez fortement en début de ponte (+27 % entre la S21 et S44) et tend à diminuer en fin de ponte (-6% entre la S45 et S101) où la variabilité semble plus importante. L'épaisseur de la coquille, elle, diminue tout au long du cycle de ponte (-8%) et sa variabilité augmente, ce qui a pour conséquence une diminution de la solidité de la coquille au cours du cycle de ponte (-27%). Une diminution du poids associée à un amincissement de coquille se traduit par une fragilisation des œufs chez les poules de 100 semaines (diminution de la solidité de la coquille, Tableau 1).

2.2. La qualité des œufs conservés

Afin d'évaluer l'effet de l'âge des poules au cours du cycle de ponte sur l'évolution de la qualité de l'œuf pendant le stockage, nous nous sommes intéressés à trois périodes différentes du cycle : 30-32 (pic de ponte), 70-74 (fin de cycle de ponte) et 94-100 (fin de cycle tardif) semaines d'âge. Les œufs ainsi produits ont été stockés à 20°C pendant 0, 7, 14 et 28 jours puis comparés pour leur qualité interne et leur qualité de coquille. Les résultats de la figure 1 montrent que la qualité interne (unités Haugh, indice du jaune) diminue au cours du temps de stockage. Cependant, la vitesse de dégradation semble similaire (pentes comparables) chez les poules de 94-100 semaines d'âge en comparaison des autres lots (30-32 et 70-74 semaines). Comme attendu, la résistance de la coquille est affectée par l'âge des poules, mais pas par le temps de stockage.

CONCLUSION

Dans la littérature scientifique, la plupart des données disponible sur la qualité des œufs ont été obtenues avec des poules White Leghorn, réputées être d'excellentes pondeuses. Dans notre étude, nous avons pu montrer que les résultats sur la qualité des œufs des poules Lohmann Tradition étaient parfaitement cohérents avec les résultats décrits pour ceux de poules White Leghorn. On observe en effet une augmentation du poids de l'œuf lié notamment à l'augmentation du poids du jaune et du blanc ; par ailleurs, le poids de la coquille se maintient au cours du cycle de ponte alors que son épaisseur diminue, ce qui aboutit à une fragilisation de l'œuf.
Comme attendu, la durée de stockage influe sur la qualité interne de l'œuf mais la cinétique de dégradation de la qualité interne des œufs (unités Haugh et indice du jaune) ne semble pas très différente chez les poules de 94-100 semaines d'âge en comparaison des poules plus jeunes (30-32 et 70-74 semaines). Des analyses complémentaires sont en cours (tests antimicrobiens, analyses protéomiques, imagerie par IRM et CT-scan…) pour compléter ces premiers résultats. Les résultats des différentes analyses seront intégrés afin d'avoir une vision globale des effets de l'allongement du cycle de ponte sur les caractéristiques internes de l'œuf.

REMERCIEMENTS

Ces expérimentations ont été réalisées dans le cadre du contrat ANR EQLIPSE (Enhancing the Quality and the Level of Internal Protections of Shell Eggs, ANR-19-CE21-0006).
Les auteurs remercient l'ANR, le CNPO et le SNIPO pour leur soutien financier, et l'unité expérimentale PEAT pour le suivi des animaux et la collecte des œufs (INRAE, PEAT, Centre Val de Loire, DOI : 10.15454/1.5572326250887292E12).

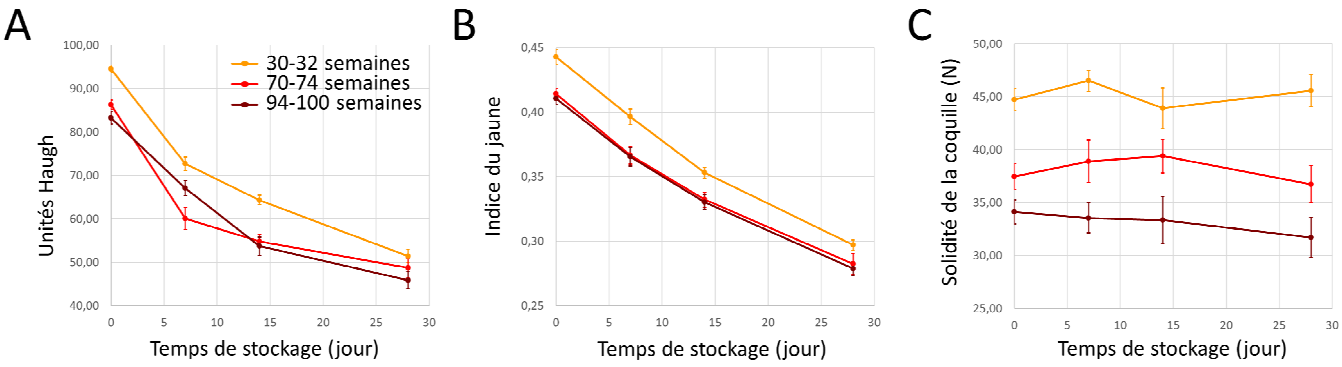
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bain M.M., Nys Y., Dunn I.C. 2016. Br Poult Sci, (57)3 :330-8.
Hincke M.T., Da Silva M., Guyot N., Gautron J., McKee M.D., Guabiraba-Brito R., Réhault-Godbert S.. 2019. J Innate Immun, (11)2 :111-124.
ITAVI. 2017. Service Economie ITAVI.15p.
Roberts J. 2014. J Poultry Science (41) 161-77..

Tableau 1. Qualité des œufs pondus du jour pour les lots de Jeunes poules (JP) et Vieilles poules (VP)

	Jeunes poules			Vieilles poules		
Age des poules (semaines)	**S21**	**S44**	**Valeur de P**	**S45**	**S101**	**Valeur de P**
Poids de l'œuf	51,69	67,98	< 0,0001	64,38	69,11	<0,01
Longueur de l'œuf (mm)	52,80	58,30	< 0,0001	57,43	61,48	< 0,0001
Largeur de l'œuf (mm)	41,58	45,31	< 0,0001	44,31	44,74	NS
Poids du blanc (g)	36,00	45,27	< 0,0001	42,58	45,66	NS
Unité Haugh	97,68	92,14	< 0,0001	90,76	84,30	<0,001
Poids du jaune(g)	10,46	16,10	< 0,0001	15,59	17,70	< 0,0001
Indice de jaune	0,46	0,44	< 0,0001	0,43	0,41	<0,05
Poids de la coquille (g)	5,22	6,60	< 0,0001	6,40	6,00	<0,01
Epaisseur de la coquille (mm)	0,39	0,40	< 0,0001	0,41	0,36	< 0,0001
Solidité de la coquille (N)	45,54	44,73	<0,05	43,65	33,07	< 0,0001

Figure 1. Evolution de la qualité des œufs en fonction du temps de stockage à 20°C : (A) Unités Haugh, (B) Indice du jaune, (C) Solidité de la coquille. Les résultats représentent les moyennes ± erreur type.



ENRICHISSEMENT DES ŒUFS : EFFET SUR LES PERFORMANCES DES POULES, LA QUALITE ET LA COMPOSITION NUTRITIONNELLE DES ŒUFS.

M. Pruvost[1], M. Colin[2], D. Chevalier[1], A. Faouën[1]
[1]*MG2MIX - La Basse Haye - 35220 CHATEAUBOURG,*
[2]*COPRI – Coat Izella N°2 – 29830 PLOUDALMEZAU*
a.faouen@mg2mix.fr

RÉSUMÉ

L'œuf se situe parmi les aliments les plus riches en nutriments et sa composition peut être améliorée en modifiant la ration des poules. A travers le monde, la demande d'œufs à très haute valeur nutritionnelle est en augmentation. Cette étude a pour objectif d'étudier l'effet de l'enrichissement de l'aliment des poules pondeuses en vitamine A, vitamine E, DHA, saponines, sélénium et iode sur la qualité et la composition nutritionnelle des œufs ainsi que sur les performances zootechniques. 231 poules de souche Hy-line Brown âgées de 33 semaines ont été réparties dans 33 cases. Pendant 12 semaines, 11 cases ont reçu l'aliment témoin (T) comprenant un prémix standard, 11 cases l'aliment D enrichi en DHA, vitamines A et E, en iode ainsi qu'en sélénium organique et inorganique tandis que les 11 dernières ont reçu l'aliment S enrichi en vitamine E, iode, sélénium inorganique et saponines susceptibles de diminuer le cholestérol de l'œuf. La qualité des œufs et leur composition nutritionnelle ont été analysées 4 semaines après le début de l'essai. Les performances zootechniques ont été mesurées chaque semaine. Un test d'analyse sensorielle a été mené afin de rechercher une éventuelle différence organoleptique entre les œufs des régimes D et T. L'utilisation de sélénium organique en plus de l'inorganique dans l'aliment D a permis un meilleur dépôt du sélénium dans l'œuf par rapport à l'utilisation de sélénium inorganique seul. Les œufs du régime D n'ont pas été enrichis en vitamine A. Le régime S n'a pas permis de diminuer le niveau de cholestérol des œufs. Aucune différence significative entre les trois régimes n'a été observée sur la qualité de la coquille et de l'albumen et sur les performances zootechniques pour les différents lots. Le test d'analyse sensorielle n'a pas montré de différence significative entre les œufs enrichis et les œufs classiques. Ces résultats montrent qu'il est possible d'enrichir les œufs des poules pondeuses en vitamine E, iode, sélénium et DHA sans effet négatif sur les performances et la qualité des œufs.

ABSTRACT

EGG ENRICHMENT: EFFECT ON LAYER PERFORMANCE, EGG QUALITY AND NUTRITIONAL COMPOSITION.

Egg is among the most nutrient-rich food and their composition can be improved by modifying the layers' diet. Worldwide, the demand for eggs with a very high nutritional value is increasing. The aim of this study was to investigate the effect of enriching the feed of laying hens with vitamin A, vitamin E, DHA, saponins, selenium and iodine on the quality and nutritional composition of eggs and on zootechnical performance. 231 Hy-line Brown layers, 33 weeks old, were divided into 33 pens. For 12 weeks, 11 pens received a control (C) diet with a standard premix, 11 pens a feed D enriched with DHA, vitamins A and E, iodine and organic and inorganic selenium, while the last 11 pens received a feed S enriched with vitamin E, iodine, inorganic selenium and saponins to reduce egg cholesterol. Egg quality and nutritional composition were analysed 4 weeks after the start of the trial. Zootechnical performance was measured weekly. A sensory analysis test was carried out to check whether there was any organoleptic difference between the eggs on diet D and the control eggs. The eggs in the D and S diets were enriched with selenium, iodine and vitamin E and the eggs in the D diet with DHA. The use of organic selenium in addition to inorganic selenium in the D-feed resulted in better deposition of selenium in the egg compared to the use of inorganic selenium alone. The eggs in diet D were not fortified with vitamin A. Diet S did not lower the cholesterol level of the eggs. No significant difference between the three diets was observed on shell and albumen quality and on zootechnical performances for the different groups. The sensory analysis test showed no significant difference between the enriched eggs and the conventional eggs. These results show that it is possible to enrich eggs of laying hens with vitamin E, iodine, selenium and DHA without negative effects on egg performance and quality.

INTRODUCTION

L'équilibre de composition en acides aminés, vitamines, lipides et minéraux de l'œuf en fait un aliment de haute valeur alimentaire (Pieroni et Coste, 2010) et une source de nombreux micronutriments : iode, sélénium, acide folique, vitamine D, vitamine E, caroténoïdes. Leur teneur dans l'œuf est modulable, notamment via l'alimentation de la poule, tandis que la teneur en macroéléments minéraux tels que le calcium, le phosphore, le sodium et le potassium est considérée comme peu variable (Bouvarel et al., 2010).

L'enrichissement des œufs est un levier intéressant pour lutter contre les carences en nutriments qui existent et persistent dans le monde. En France, les apports alimentaires en vitamine E sont inférieurs à un tiers des Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) chez 2 à 17% de la population (Le Grusse et Watier, 1993). Des compléments alimentaires de différentes sortes ainsi que d'autres aliments santé se commercialisent de plus en plus pour remédier à ces carences. Les œufs enrichis peuvent donc intéresser les consommateurs d'un point de vue nutritionnel sans modifier pour autant leurs habitudes alimentaires.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Le protocole expérimental

L'essai s'est déroulé dans la ferme de recherche zootechnique pondeuse de MG2MIX. Un total de 231 poules de type Hy-Line Brown ont été réparties dans 33 cases de 7 poules. Celles-ci sont nourries avec un repas de 120 g par jour et par animal. Au début de l'essai, les poules étaient âgées de 33 semaines et celui-ci a duré jusqu'à 45 semaines d'âge, soit une durée de 12 semaines.

L'aliment était présenté sous forme de farine et formulé de sorte que les régimes soient iso-protéiques et iso-énergétiques. Trois régimes ont été testés :

- Un régime témoin (T) avec un aliment composé d'un prémix standard destiné à couvrir les seuls besoins nutritionnels, vitaminiques et minéraux des poules.
- Un régime D avec un aliment composé d'un prémix enrichi en DHA sous forme de farines de microalgues, de vitamines A et E, de sélénium inorganique sous forme de sélénite de sodium, de sélénium organique sous forme de sélénométhionine et d'iode sous forme d'iodate de calcium.
- Un régime S composé d'un prémix enrichi en vitamine E, en sélénium inorganique et en iode sous les mêmes formes que précédemment et en saponines. La saponine agit en complexifiant le cholestérol et sa présence dans le prémix a pour but de diminuer le cholestérol de l'œuf (Afrose et al., 2010).

Aucun de ces régimes ne contient de lin extrudé destiné à augmenter le taux d'ALA de l'œuf contrairement à des essais antérieurs sur un thème analogue (Colin et al., 2013 ; Guriec., 2014 ; 2016 ; Corral et al., 2016).

Chaque régime a fait l'objet de 11 répartitions réparties entre les cages de façon aléatoire.

1.2. Les mesures effectuées

Les sacs d'aliments sont pesés avant l'ouverture. Les sacs et les trémies d'aliment sont pesés hebdomadairement afin d'estimer la consommation par case par semaine.

Des mesures de la solidité de coquille et des unités Haugh ont été effectuées sur 100 œufs par régime au bout de 5 semaines d'essai. Les œufs ont été pesés individuellement, puis mirés pour repérer les fêlures dans la coquille. La dureté statique, correspondant à la force à exercer sur la coquille pour la déformer d'un millimètre et la force de fracture qui correspond à la force maximale à exercer pour rompre la coquille ont été mesurées. Enfin l'unité Haugh, représentative de la qualité de l'albumen et des indices de fraicheur de l'œuf, a également été mesurée (Beaumont et al., 2010).

Des analyses de composition nutritionnelle de l'œuf ont été effectuées sur 180 œufs après 4 semaines d'essai. Ces analyses concernent la matière azotée totale, la matière grasse, le profil des acides gras, les vitamines A et E, le sélénium, le cholestérol et l'iode.

Les œufs ont été pesés par case hebdomadairement en séparant ceux considérés comme déclassés et ceux commercialisables.

Un test d'analyse sensorielle a été mené afin de vérifier s'il existe une différence organoleptique significative entre les œufs du régime D et les œufs témoin et vérifier ainsi le niveau de satisfaction des consommateurs. Un test triangulaire est réalisé sur 44 participants dont le but a consisté à savoir si le consommateur perçoit une différence sensorielle entre les œufs. Elle consiste à présenter au consommateur 3 œufs à la coque dont 2 sont identiques. Après avoir gouté les 3 échantillons, le consommateur, qui n'en connait pas la répartition, indique l'œuf différent des 2 autres.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. La composition nutritionnelle des œufs

Les œufs issus du régime D montrent une augmentation de 29,4% des oméga 3 totaux et de 50% du DHA par rapport aux œufs Témoin. Seules les différences sur le DHA ont une tendance à la

signification statistique (P = 0,1). Aucun changement n'est constaté pour le régime S par rapport au témoin (tableau 1). Ces enrichissements en oméga 3 totaux et en DHA sont beaucoup plus faibles que ceux observés avec des régimes contenant du lin extrudé par Colin et al (2014) et Guriec et al (2016) ce qui est normal pour les omégas 3 totaux puisque nos régimes n'apportent pas d'ALA. Pour le DHA, les taux d'enrichissement plus bas par rapport aux essais précédents peuvent s'expliquer à la fois par un apport plus faible dans l'aliment et par un taux d'acides gras saturés beaucoup plus important.

Aucune différence significative n'est constatée au niveau du cholestérol de l'œuf (tableau 1), malgré une baisse du cholestérol des œufs de 366 mg/100g d'œuf à 352 mg/100g entre les œufs T et S. Ces résultats sont en accord avec Sim et al. (1894) qui ne trouvent aucune diminution significative du taux de cholestérol de l'œuf après ajout de saponines mais contraire à l'étude menée par Afrose et al. (2010), qui montre qu'un ajout de saponines en quantité identique à notre essai diminue significativement le taux de cholestérol de l'œuf.

Par rapport au témoin, une baisse significative de vitamine A de 34% a été observée dans les œufs issus du régime S ($p<0,05$) tandis que les œufs issus du régime D n'ont pas montré un taux supérieur en vitamine A (Tableau 2). Les essais de Naber et Squires (1993) montrent une augmentation de 510% pour une incorporation dans l'aliment identique à celle de notre étude (4,8 mg/kg de vitamine A). Cette augmentation est à relativiser en raison de la très faible valeur du témoin qui est de 63 contre 149 µg/100g pour le témoin de notre étude. Dans l'essai de Naber et Squires (1993), l'œuf témoin présente donc une carence en vitamine A. Cependant, pour une même teneur en vitamine A dans l'aliment (4.8 mg/kg d'aliment complet), les œufs enrichis ont une teneur en vitamine A plus haute pour Naber et Squires (1993) par rapport à notre essai (385 µg/100g contre 143 µg/100g pour notre essai). Ce phénomène pourrait s'expliquer par le fait que Naber et Squires (1993) ont effectué un mono enrichissement en vitamine A alors que notre essai est un enrichissement simultané de plusieurs nutriments.

Les teneurs en vitamine E des œufs ont significativement augmenté dans les deux régimes enrichis ($p<0,05$). Les œufs du régime D ont été enrichis à hauteur de 7,05 mg/100g d'œuf et ceux du régime S à hauteur de 5,60 mg/100g contre 1,15 mg/100g pour les œufs issus du régime Témoin, augmentations comparables à celles rapportées par Guriec et al., (2014).

Certains essais rapportent une possible compétition entre l'absorption des vitamines A et E. Chez le rat, Johnson et Baumann (1948) montrent que la vitamine E aurait une influence négative sur le β-carotène : des doses élevées de vitamine E réduisent significativement les quantités de vitamine A métabolisée. L'hypothèse d'une compétition est donc probable entre la vitamine A et la vitamine E. Au cours de leurs deux essais, Grobas et al. (2002) émettent également l'hypothèse de l'existence d'une compétition entre les vitamines A et E. Les deux essais (Grobas et al., 2002) testent plusieurs doses de vitamine E dans l'aliment avec une dose de vitamine A constante, cette dose étant moins élevée dans le premier essai (1,2 mg/kg d'aliment complet) que dans le second (12 mg/kg d'aliment complet). Les enrichissements en vitamine E sont plus importants lorsque la teneur en vitamine A de l'aliment est plus faible. L'hypothèse de la compétition émise est confirmée expliquant un meilleur taux de transfert de la vitamine E dans le régime S non enrichi en vitamine A et la teneur en vitamine A est inférieure dans les œufs S par rapport aux œufs témoin malgré un apport dans l'aliment identique.

Pour le régime D, l'aliment contient un prémix enrichi en sélénium organique et inorganique tandis que pour le régime S, l'aliment contient la même quantité de sélénium total mais uniquement sous forme inorganique. Les œufs issus du régime D sont enrichis de 32% en sélénium par rapport aux témoin ($p<0,05$) et ceux du régime S de 20% (tableau 2). Ces augmentations du taux de sélénium dans l'œuf avec un apport alimentaire supplémentaire sont comparables à ceux rapportés par Guriec et al., (2014). Le pourcentage de dépôt de sélénium est de 12,1% dans les œufs D et de 7% pour le régime S. Le régime D montre un taux de transfert supérieur à celui du S. La forme organique du sélénium présente donc un meilleur transfert dans les œufs.

Les prémix S et D ont été supplémentés avec les mêmes teneurs en iode (3,02 mg/kg). Les œufs issus du régime Témoin contiennent 50,5 µg/100g d'iode et ceux des régimes D et S contiennent respectivement 101 et 103 µg/100g d'iode (tableau 2). Les taux de transfert en iode dans les œufs D et S sont respectivement de 16,0% et 16,3%. Yalcin et al. (2004) obtiennent une valeur de 26,2 µg/100g d'œuf pour une même teneur en iode dans l'aliment (à savoir 3,0 mg/kg) donc une valeur plus faible que dans notre essai. L'essai de Schmitt et al. (2017) montre des résultats d'enrichissement importants avec une quantité d'iode de 583 µg/100g d'œuf. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que l'enrichissement ait été réalisé via une algue. Nous n'avons aucun renseignement sur la teneur en iode de cette algue dans l'aliment et ne pouvons pas savoir si l'enrichissement par cette algue est plus efficace ou s'il y a plus d'iode apporté.

2.2. Les performances zootechniques des poules

Le taux de ponte, le poids des œufs, les indices de consommation, le pourcentage d'œufs déclassés n'ont pas montré de différences significatives entre les régimes au cours de l'essai conformément à l'hypothèse de départ (tableau 3). Ces résultats sont en accord avec d'autres publications comme celles Grobas et al. (2002) ou Galobart et al. (2001), qui, à la suite d'un enrichissement des œufs en vitamines E n'ont trouvé aucune différence significative pour les taux de ponte et le poids des œufs.

Le seul paramètre en désaccord avec ces résultats est la consommation journalière par poule. En effet, Grobas et al. (2002) et Galobart et al. (2001) n'ont trouvé aucune différence significative de consommation journalière entre les régimes. Dans notre essai, il s'est avéré que les poules nourries avec le régime D ont significativement moins consommé que celles nourries avec les deux autres régimes ($p<0,05$) ce qui peut s'expliquer par la présence d'algues marines qui dégagent une forte odeur ou par la présence de DHA. Cependant, ceci n'a eu aucun impact sur le poids des poules et leurs performances.

2.3 La qualité des œufs

Aucune différence significative n'apparait au niveau de la qualité de coquille et de l'albumen conformément à l'hypothèse de départ (tableau 4).

2.4 L'évaluation de consommateurs

Dans le test triangulaire effectué avec 44 consommateurs, le nombre de réponses correctes est de 19 montrant qu'il n'existe pas de différence significative entre les œufs témoin et les œufs du groupe D ($p>0,05$).

3. CONCLUSION

Cet essai a montré qu'un apport supplémentaire en iode, vitamines E, DHA et en sélénium dans l'aliment des poules pondeuses conduit à un enrichissement de l'œuf en ces nutriments. Cependant, l'enrichissement en vitamine A semble faible. Cela est probablement lié à une compétition existante entre les vitamines A et E et au fait que la dose zootechnique permet déjà un enrichissement. Le sélénium organique présente un taux de transfert largement supérieur au sélénium inorganique et constitue donc la forme la plus adaptée pour enrichir l'œuf.

Les performances zootechniques, la qualité de coquille ou d'albumen n'ont pas été impactées par les régimes enrichis. De plus les consommateurs n'ont pas ressenti de différence entre les œufs non enrichis et les œufs enrichis du régime D.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Afrose S., Hossain M.S., Tsujii H., 2010. British Poultry Science. 51 :797–804.

Beaumont C, Calenge F., Chapuis H., Fablet J., Minvielle F., Tixier-Boichard M., 2010. Inra Prod. Anim., 23, 123-132.

Bouvarel I., Nys Y., Panheleux M., Lescoat P., 2010. Inra Prod. Anim., 23, 167-182

Colin M., Delarue J., Raguenes N., Prigent A.Y., Guttierrez G., Saliba C. 2013. 11èmes journées francophones de nutrition, bordeaux 11-13 décembre 2013 – Cahier de nutrition et de diététique 48, S58.

Corral A., Meca E., Guriec N., Delarue J., Colin M., Prigent A.Y., Van Lissum M. 2016. Journées francophones de nutrition, Montpellier, 30 novembre – 2 décembre 2016, PO 052.

Galobart J., Barroeta A., Baucells M., Guardiola F., 2001. Poultry Science. 80 :327–337.

Grobas S., Méndez J., Bote B.L., Blas B.D., Mateos G., 2002. Poultry Science. 81:376–381.

Guriec N., Colin M., Delarue J., Prigent A.Y., Guttierez G., Saliba C. 2014. Journées francophones De nutrition, Bruxelles, 10-12 décembre 2014, PO13

Guriec N., Ibrahim Dalieh R., Delarue J., Peron M., Colin M., Claveau C., Van Lissum M. 2016. Journées francophones de nutrition, Montpellier, 30 novembre – 2 décembre 2016, PO 048.175, 811-816.

Johnson R. M. et Baumann, C. A., 1948. Journal of Biological Chemistry, 175, 811-816.

Le Grusse J. Watier, B., 1993. Centre d'Etude et d'Information sur les Vitamines.

NABER, E.C., SQUIRES, M.W., 1993 Poultry Science, 72(6), pp.1046-1053.

Pieroni G, Coste T.C., 2010 Cahiers de Nutrition et de Diététique. 45 :261-266

Schmitt B., Ferry C., 2017. Nutritions et Endocrinologie, vol 15, n°79.

Sim J.S., Kitts W.D., Bragg D.B., 1984. Canadian Journal of Animal Science. 64:977–984.

Yalçin S., Kahraman Z., Yalçin S., Dedeoğlu H., 2004. British Poultry Science. 45 :499–503

Tableau 1 : Comparaison des moyennes des taux d'oméga 3, DHA et de cholestérol selon les régimes

Nutriment	Régime	Teneur dans l'œuf	p-value
Omega 3 (% acides gras)	T (Témoin)	0.85	0.14
	D (enrichi en DHA, vitamines A et E, sélénium et iode)	1.10	
	S (enrichi en vitamine E, sélénium, iode, saponines)	0.85	
DHA (% acides gras)	T	0.54	0.11
	D	0.81	
	S	0.58	
Cholestérol (mg/100g)	T	366	0.63
	D	360	
	S	352	

Tableau 2 : Taux dans l'aliment, dans l'œuf et pourcentage de transfert des vitamines et minéraux

Nutriment	Régime	Taux aliment (mg/kg)	Teneur dans l'œuf (µg/100g)	p-value	% dépôt
Vitamine A	T	2.40	149 µg/100g b	0.006	
	D	4.80	143 µg/100g b		
	S	2.40	99 µg/100g a		
Vitamine E	T	10.0	1.15x10-3 a	2,23.10-5	
	D	140	7.05 x10-3 b		21.3 %
	S	90.0	5.60 x10-3 c		25.9 %
Sélénium	T	0.30	25.0 a	0.05	
	D	0.60	33.0 b		12.1 %
	S	0.60	30.0 ab		7.00 %
Iode	T	1.52	50.0 a	2,25.10-4	
	D	3.02	101 b		16.0 %
	S	3.02	103 b		16.3 %

Tableau 3 : Comparaison des moyennes des performances au cours de l'essai selon les régimes

Régime	Taux de ponte (%)	Poids moyens œufs commercialisables (g)	Poids moyens œufs déclassés (g)	Indices de consommation	Œufs déclassés (%)	Consommations moyennes (g/j/poule)
T	93.6	62.1	63.5	2.12	11.4	123a
D	93.2	62.5	63.5	2.17	11.0	122b
S	90.4	61.4	63.5	2.21	11.3	123a
p-value	0.34	0.25	0.99	0.53	0.88	2.21.10-5

Tableau 4 : Comparaison des moyennes des poids d'œufs, des paramètres de qualité de coquille et de qualité de l'albumen sur 100 œufs par régime

Régime	T	D	S	p-value
Nombre d'œufs fêlés	8	11	11	0.71
Rigidité statique (N/mm)	189	187	187	0.77
Force de fracture (N)	42	42.9	42.8	0.55
Hauteur albumen (mm)	8.2	8.08	8.05	0.52
Unités Haugh	89.8	88.8	88.7	0.29
Poids d'œufs (g)	61.5	62.6	62.3	0.24

ENRICHISSEMENT DES ŒUFS : EFFET SUR LEUR COMPOSITION NUTRITIONNELLE

Morgane Pruvost[1], Michel Colin[2], Denis Chevalier[1], Anaëlle Faouën[1]
[1]MG2MIX - La Basse Haye - 35220 CHATEAUBOURG,
[2]COPRI – Coat Izella N°2 – 29830 PLOUDALMEZAU
Contact : a.faouen@mg2mix.fr



INTRODUCTION

L'œuf se situe parmi les aliments les plus riches en nutriments et sa composition peut être améliorée en modifiant la ration des poules. Cette étude a pour objectif d'étudier l'effet de l'enrichissement de l'aliment de poules pondeuses en vitamine A, vitamine E, DHA, sélénium, iode et d'un apport en saponines sur la qualité et la composition nutritionnelle des œufs.

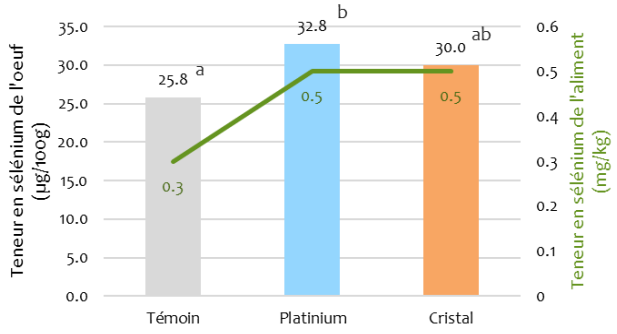
MATERIEL ET METHODES

231 poules Hy-Line Brown ont été réparties dans 33 cases de 7 poules. Trois régimes ont été testés :
-Témoin avec un aliment composé d'un prémix standard
-Platinium enrichi en DHA, vitamines A et E, sélénium inorganique et organique et iode
-Cristal enrichi en vitamine E, sélénium inorganique, iode et saponines
Des analyses de la composition nutritionnelle de l'œuf ont été effectuées sur 180 œufs après 4 semaines d'essai.

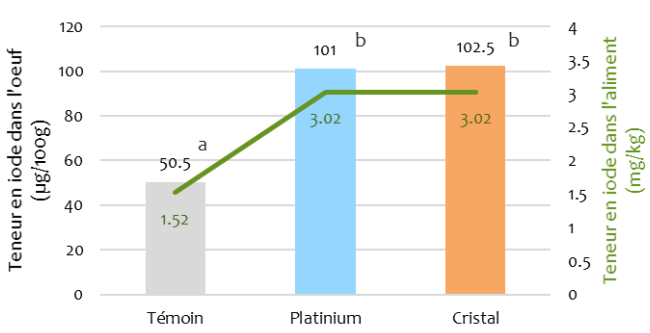
RESULTATS

Un apport supplémentaire en iode, vitamine E, DHA et sélénium dans l'aliment des poules pondeuses a conduit à un enrichissement de l'œuf en ces nutriments. Cependant, aucun enrichissement en vitamine A n'a été observé. Le sélénium organique a montré un taux de transfert supérieur au sélénium inorganique. Les saponines n'ont pas permis une diminution significative du cholestérol dans l'œuf.

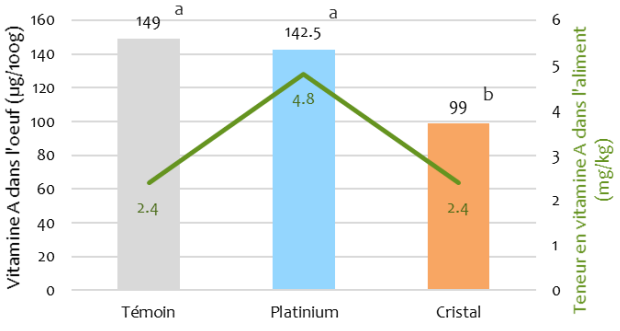
Taux de sélénium dans l'aliment et dans l'œuf



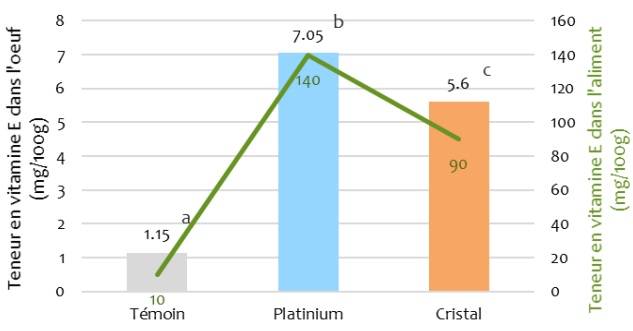
Taux d'iode dans l'aliment et dans l'œuf



Taux de vitamine A dans l'aliment et dans l'œuf



Taux de vitamine E dans l'aliment et dans l'œuf



Taux d'oméga 3, DHA et cholestérol selon les régimes (p>0.10)

	Témoin	Platinium	Cristal
Omega 3 (% acides gras)	0.85	1.10	0.85
DHA (% acides gras)	0.54	0.81	0.58
Cholestérol (mg/100g)	366	360	352

CONCLUSION

Il est possible d'enrichir l'œuf en nutriments essentiels comme le DHA et certains oligo-éléments et vitamines et d'en faire ainsi un superaliment.

PEPSINE DE POULET : EFFETS COAGULANT ET PROTEOLYTIQUE SUR LES CASEINES DU LAIT

F.A. Benyahia[1], O. Aissaoui-Zitoun[1], B. Meghzili[1] & M.N. Zidoune[2]

[1]Laboratoire du Génie Agro-Alimentaire (GENIAAL
[2]Laboratoire de Recherche en Nutrition et Technologie Alimentaire (L.N.T.A-TEPA), Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA), Université des frères Mentouri, Constantine 1, Route Ain El Bey, Constantine-25000, Algérie

ferialaziza@yahoo.fr

RESUME

La présente étude vise la détermination du pouvoir coagulant et l'action protéolytique de la pepsine de poulet sur les caséines du lait. La méthodologie suivie s'est basée sur la détermination du temps de floculation des caséines, leur précipitation à pH 4,6 en solution de TCA pour exprimer les variations d'azote non caséinique (NCN : non-casein nitrogen), et l'azote non protéique (NPN : non-protein nitrogen). Ces variables sont comparés à la présure, enzyme de référence en fromagerie. Les paramètres étudiés ont été déterminés après action de chaque enzyme sur les caséines dans un intervalle de temps de 0,5 h, 1 h, 3 h, 6 h, 9 h, et 24 h respectivement. Les résultats ont montré qu'un litre de l'extrait brut de pepsine obtenu à partir de 400 g de proventricules coagule environ 13142 litres de lait. Cette même quantité de lait pourrait être coagulée dans les mêmes conditions par 0,18 litres de présure de force (1 : 70815). D'autre part, la libération de NPN n'a pas montré une distinction significative entre l'action de la pepsine ou la présure, mais une différence notable ($p<0,05$) a été enregistrée dans les taux d'évolution de NCN entre les deux enzymes. En effet, le taux de protéolyse après 24 h de coagulation par rapport à l'azote total (TN) exprimé par le rapport NPN/TN en% par la pepsine et la présure était respectivement 7,99 ± 0,12 & 7,93± 0,16 et exprimé par le rapport NCN/TN en % 25,51 ± 0,34 & 16,53± 0,38. Le proventricule, estomac chimique, source de pepsine de poulet et en partie jeté lors de l'abattage, pourrait être valorisé et éventuellement utilisé pour coaguler environ 24,6 milliards de litres de lait/an.

Mots clés : pepsine de poulet, valorisation, coagulation du lait, protéolyse.

ABSTRACT

Chicken pepsin: coagulant and proteolytic effects on milk caseins

The present study aims to determine the coagulating strength and the proteolytic action of chicken pepsin on milk caseins. The methodology followed is based on the determination of the caseins flocculation time, their precipitation at pH 4.6 in TCA solution to express variations of non-casein nitrogen (NCN) and non-protein nitrogen (NPN). These parameters are compared to rennet, the reference enzyme in cheese-making. The parameters studied were determined after action of each enzyme (pepsin or rennet) on caseins in a time interval of 0.5 h, 1 h, 3 h, 6 h, 9 h, and 24 h respectively. Results showed that one liter of crude pepsin extract obtained from 400 g of proventriculi coagulates approximately 13142 liters of milk. This same quantity of milk could be coagulated under the same conditions by 0.18 liters of rennet with coagulating strength 1:70815. On the other hand, the release of NPN did not show a significant difference distinction between the action of pepsin or rennet, but a considerable difference ($p<0.05$) was noted in the evolution rates of NCN between the two enzymes. Indeed, the rate of proteolysis after 24 h of coagulation compared to total nitrogen (TN) expressed by the NPN/TN ratio in% by pepsin and rennet was respectively 7.99 ± 0.12 & 7.93 ± 0.16 and expressed by the NCN/TN ratio in % 25.51 ± 0.34 & 16.53 ± 0.38. The proventriculus, chemical stomach, source of chicken pepsin and partly discarded during slaughter, could be recovered and possibly used to coagulate around 24.6 billion liters of milk/year.

INTRODUCTION

La coagulation du lait pour la fabrication de fromages traditionnels est réalisée avec de la présure de caillette de ruminants. La présure de veau est la plus utilisée dans le monde (Moschopoulou *et al.,* 2007 ; González-Velázquez *et al.,* 2021 ; Liu *et al,* 2021 ; Rajagopalan *et al.,* 2021). Ces dernières années, le nombre de jeunes veaux, sources de présure traditionnelle a diminué, tandis que la production de fromage dans le monde augmente continuellement. La recherche de substituts de présure est en cours pour pallier aux problèmes des prix élevés et des ressources en quantités limitées d'estomacs de ruminants (Esteves *et al.,* 2001 ; Afsharnezhad *et al.,* 2019 ; Rajagopalan *et al.,* 2021). Toutes les enzymes commerciales utilisées comme coagulants du lait sont des protéinases aspartiques, (Silva *et al.,* 2002 ; Rocha *et al.,* 2021). Parmi ces protéases se trouve la pepsine de poulet (EC.3.4.23.1) qui peut être extraite des préestomacs de poulets dans l'industrie avicole. La promotion de l'extraction de la pepsine de poulet serait justifiée en Algérie du fait de sa facilité de valorisation et de sa disponibilité liée à l'expansion de l'aviculture (250 000 tonnes/an) et de la production laitière (355 000 tonnes/an) (FAO, 2019). Nous avons donc jugé nécessaire d'extraire cette pepsine de poulet, de déterminer son pouvoir coagulant et de caractériser ses aspects protéolytiques en estimant l'évolution de la libération de NPN (non-protein nitrogen) et de NCN (non-casein nitrogen).

MATERIEL & METHODES

1. Lait écrémé

La poudre de lait écrémé obtenue par le procédé moyen chauffage (medium heat) (Molochansk Dairy, Ukraine) a été reconstituée à 12 % (p/vol.) dans de l'eau distillée et équilibrée pendant une nuit à 4°C. De l'azide de sodium (0,04 % p/vol.) a été ensuite rajouté pour empêcher la croissance microbienne.

2. Enzymes coagulantes

2.1. **Extrait de pepsine de poulet** : l'extraction de pepsine a été réalisée selon le protocole de Bohak (1970). Cent grammes de proventricules de poulet ont été broyés dans 300 mL de solution constituée de 30 g de NaCl et 7g de $NaHCO_3$ par litre de solution. Ensuite le mélange a été agité pendant 3 heures à 4°C. Après filtration sur gaze (0,5 mm), l'extrait brut a été acidifié avec HCl 3N jusqu'à pH 2 pour activer la pepsine en 30 min., puis le pH a été réajusté à 6,6 avec NaOH 1N.

2.2. Présure : la poudre commerciale de présure bovine (MARSCHALL, Rhodia-Food France) contient au minimum 75 % de chymosine.

3. Tests d'activité enzymatique

Pour ce test, un mL de solution diluée de pepsine de poulet ou de présure a été ajouté à des volumes de 10 mL de lait écrémé réchauffé (substrat Berridge) pour la coagulation à 30°C dans des tubes à essai. Le temps de coagulation a été déterminé lorsque les premiers flocons visibles sur la surface de verre en mouvement, sont apparus. En raison de leur différence de concentration enzymatique, l'extrait de pepsine de poulet et la solution de présure commerciale ont été dilués pour limiter le temps de coagulation du lait de 5 à 6 minutes (Green *et al.,* 1984). L'activité de coagulation du lait a été exprimée en unité de présure (UP) et la force coagulante en unité Soxhlet (US) (Alais, 1984).

$$\text{Activité coagulante (UP mL}^{-1}) = (10 \times V)/(T \times v)$$

Où UP: unité présure, V : volume de lait, v : volume d'enzyme, T : temps de coagulation du lait (s).

La force coagulante a été estimée en unités Soxhlet (US) en utilisant l'activité de coagulation du lait (Alais, 1984)

$$\text{Force coagulante} = \text{Activité coagulante} / 4{,}16\ 10^{-3}$$

4. Suivi de la protéolyse : L'activité protéolytique dans les gels de pepsine de poulet ou de présure a été estimée par la production de : (1) azote non caséinique (NCN : Non-casein nitrogen) et (2) azote non protéique (NPN : Non-protein nitrogen). Ceux-ci ont été déterminés respectivement dans le surnageant après précipitation de caséine à pH 4,6, ou dans de l'acide trichloracétique (TCA) 12 %. Les valeurs de NCN et NPN par rapport à l'azote total (TN : Total nitrogen) ont été suivis pendant des intervalles de temps de 30 min, 1 h, 3 h, 6 h, 9 h et 24 h. Les différentes fractions d'azote ont été estimées par la méthode de Kjeldahl (IDF 20-1-ISO 8968-1: 2014).

5. Analyses statistiques

Les variations de la protéolyse des gels de pepsine de poulet ou de présure, de 30 minutes à 24 heures sont présentées comme des moyennes de mesures en triple et soumises à une analyse de variance par STATISTICA Version 13.2 (2016).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les principales caractéristiques de l'extrait de pepsine de poulet ou de la présure sont présentées dans le tableau 1.

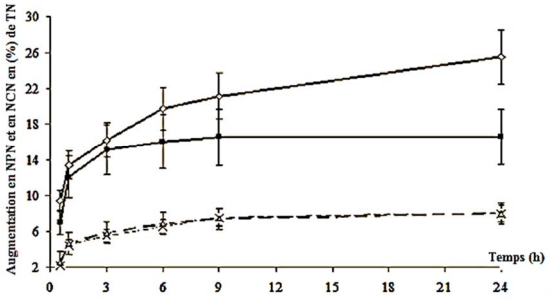
Tableau 1 : Comparaison des niveaux protéolytiques de l'extrait de pepsine de poulet et de présure lors de la coagulation du lait

Caractéristiques	Extrait brut de pepsine de poulet	Présure
Activité coagulante de lait (UP/ml)	60,06[a] ± 0,14	323,62[b] ± 44,56
Force coagulante (US)	13142[a] ± 1498	70815[b] ± 1865
Taux de protéolyse (à 24 heures de coagulation)		
NPN/TN (%)	25,51[a] ± 0,34	16,53[b] ± 0,38
NPN/TN (%)	7,99[a] ±0,12	7,93[b] ±0,16

Les moyennes ne partageant pas la même lettre, sont significativement différentes (p<0,05).

Le protocole d'extraction a montré qu'un litre de pepsine de poulet brut obtenu à partir de 400 g de proventricules pouvait coaguler environ 13 142 litres de lait. Cette quantité de lait pouvait être coagulée par 0,18 litre de présure de force (1 : 70815). Le coût d'importation de la présure, enzyme utilisée par excellence dans la fabrication de fromages par les industries laitières en Algérie, est d'environ 220 €/Kg. L'utilisation de pepsine de poulet permettrait de coaguler le lait et par conséquent, de faire des économies. Comme l'activité protéolytique de la pepsine de poulet est relativement élevée comparativement à l'activité de la présure, elle est plutôt recommandée dans la coagulation du lait destiné à la fabrication des fromages à pâtes pressées.

Figure 1 : Evolution de l'augmentation du NPN (Δ, ×), et du NCN (◊, ■) du gel pepsine et du gel présure respectivement



L'activité protéolytique des enzymes coagulantes a été estimée à partir de la libération des fractions NPN et NCN par rapport à TN (Figure 1).

Les rapports NPN/TN et NCN/TN dans le lait écrémé sont respectivement de 5,1 % et 33,3 %. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par Alais (1984), qui sont de 5 pour NPN et de 32 % pour NCN. Aucune différence significative n'a été notée dans l'activité protéolytique des deux enzymes lorsqu'elle est exprimée en par le rapport NPN/TN. L'allure de la libération du NPN pour les deux enzymes est similaire. Cette libération s'est déroulée en deux étapes : (a) : 0-9 h, au cours desquelles il y a eu une augmentation d'environ 5,8 % pour la pepsine et 5,4 % pour la présure ; (b) : 9-24 h, pendant lesquelles il y avait une stabilisation de la libération des fractions NPN à environ 0,5 %. Cependant, l'activité protéolytique indiquée par la libération du NCN a montré une différence significative (p<0,05) entre la pepsine et la présure. Pour la pepsine, il y a eu une augmentation continue de la libération du NCN d'environ 16 % de 0 h (9,4 %) à 24 h (25,5 %). Néanmoins, la présure a montré deux niveaux d'activité protéolytique, le premier étant caractérisé par une augmentation de la libération du NCN d'environ 9,5 % de 0 h (7,0 %) à 9 h (16,5 %), le deuxième niveau se stabilisant de 9 h à 24 h. Ainsi, une augmentation de l'activité protéolytique de la pepsine sur les caséines, indiquée par la libération de NCN s'est produite de 30 minutes à 24 heures d'incubation sans qu'il ait une stabilisation contrairement à l'activité de la présure qui s'est stabilisée de 9 h à 24 h d'incubation.

La libération similaire du NPN par la présure et par la pepsine indique que la caséine κ constitue un substrat spécifique de la pepsine lors de la phase primaire (ou phase enzymatique) de la coagulation du lait et que cette protéolyse aboutit à la formation de deux fragments distincts, la paracaséine κ, à caractère hydrophobe et la caseinomacropeptide (CMP) à caractère hydrophile (Alais, 1984).
En outre, si aucune augmentation dans la libération d'azote soluble dans l'acide trichloracétique à 12 p. 100 n'est observée dans l'intervalle de temps étudié, cela peut être dû au fait que les produits d'hydrolyse des autres caséines (αs ou β) par la présure ou par la pepsine sont des composés de poids moléculaire élevé, insolubles dans le TCA, réactif déprotéinisant.
De manière générale, l'azote non protéique ne représente qu'une faible fraction de l'azote du lait, entre 5 et 6p. 100, soit l'équivalent de 1,6 à 1,9 g de matière azotée totale (N X 6,39) par kg de lait (Veisseyre 1979, Alais, 1984).

Ces résultats obtenus sont appuyés par ceux donnés par Veisseyre (1979), qui a signalé que le taux de libération de NPN à partir de la présure s'est stabilisé à environ 4,5 % de TN du lait et l'allure des courbes est similaire à celle de cette présente étude. A l'opposé, certaines protéases comme la trypsine, la chymotrypsine et

d'autres, issues de microorganismes tels que *Mucor pusillus*, *Mucor miehei* et *Endothia* libèrent du NPN en continu dans du TCA 12 % sans aucune stabilisation. (Houins *et al,* 1973 ; Veisseyre, 1979 ; Alais, 1984 ; Morellon-Sterling *et al,* 2020 ; Holt et Carver, 2021 ; Guinee,2021 ; Liu *et al,* 2021).

La différence de libération de NCN peut s'expliquer par la spécificité de la présure qui hydrolyse la caséine kappa uniquement au niveau de la liaison Phe(105)-Met(106), principalement dans une gamme de pH de 5,8 à 6,8 alors que le site actif de la pepsine contient deux résidus d'acide aspartique, Asp 32 et Asp 215 qui clivent les résidus d'acides aminés aromatiques (Tyr, Trp, Phe) et hydrolysent préférentiellement les liaisons peptidiques hydrophobes (Leu, Ile, Ala et Val) ainsi que Glu. Ainsi, l'activité des enzymes protéolytique diffère selon leur origine et leur spécificité qui dépendent étroitement des acides aminés et parfois des métaux, qui composent leurs sites de fixation et leurs sites catalytiques (Bayliss *et al.,* 1969 ; Andreeva et Rumsh, 2006, Keil, 1992 , Qi *et al.,* 2007 , Afsharnezhad *et al.,* 2019, González *et al.,* 2021, Rajagopalan *et al.,* 2021, Rocha *et al.,* 2021).

CONCLUSION

Les résultats de cette étude ont montré qu'un litre de pepsine de poulet brut obtenu à partir de 400 g de proventricules coagule environ 13 142 litres de lait. Aucune différence significative n'a été notée entre l'activité protéolytique de la pepsine de poulet et celle de la présure lorsqu'elle est exprimée en NPN. Ceci peut indiquer que leur hydrolyse des caséines était très spécifique et limitée. Le modèle de libération du NCN différait significativement ($p<0,05$) entre la pepsine et la présure. Une augmentation de l'activité protéolytique de la pepsine sur les caséines, basée sur la libération de NCN s'est produite de 30 minutes à 24 heures d'incubation et il n'y a eu aucune stabilisation. L'utilisation de la pepsine de poulet comme substitut de la présure dans la coagulation du lait et la fabrication du fromage notamment à pâte cuite est réalisable. Elle doit être encouragée compte tenu de l'augmentation de la production de volaille et du lait cru en Algérie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Afsharnezhad M., Shahangian S.S., and Sariri R., 2019. *Intern. J. of Biolog. Macromol.* 121: 173-82.
Alais C., 1984. In Science du lait, principes des techniques laitières, 4ème édition p. 818.
Andreeva N. S. and L. D. Rumsh, 2006. Protein Science 10: 2439-2450.
Bayliss R. S., J. R. Knowles and G. B. Wybrandt, 1969. Biochem. J. 113: 377-386.
Bohak Z., 1970. In : methods in methods in enzymology vol XIX proteolytic enzymes (Eds;G.E. Perlmann and L. Lorand). Academic Press, New York, pp: 347-358.
Esteves C.L.C., J. A. Luceyand E.M.V. Pires, 2001. J. of Dairy Res. 68: 499-510.
FAO, 2019. Food and Agriculture Organization of United Nations. https://www.fao.org/statistics/fr/
González-Velázquez, D.A., Mazorra-Manzano M.A., Martínez-Porchas M., Huerta Ocampo J.A. Vallejo-Córdoba B., W.y G. Mora-Cortes, Moreno-Hernández J. M., et Ramírez-Suarez J.C., 2021. *Appl Biochem Biotechnol* 193, n° 2: 389-404.
Green M.L., M. J.Valler and J. Kay,1984. J. of Dairy Res. 51: 331-340.
Guinee, Timothy P., 2021. *Intern. Dairy J.* 121 : 105095 , 1-13
IDF 20-1, 2014. In Lait et produits laitiers -Détermination de la teneur en azote.
Holt, C., et J.A. Carver, 2021. *Intern. Dairy J.,* 1-65.
Houins G., Eroanne C and Coppens R., 1973. Le lait, pp : 529-530.
Keil, B.,1992. In Specificity of proteolysis. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg New york p: 335.
Liu, X., Wu Y., Guan R., Jia G., Ma Y. , et Zhang Y., 2021. *Food Res. Intern,.* 149: 110704, 1-11.
Morellon-Sterling R., El-Siar H., Tavano O.L., Berenguer-Murcia A., et Fernández-Lafuente R., 2020. *Intern. J.of Bio.Macromol.,* 162: 394-404.
Moschopoulou E., I. Kandarakis and E. Anifantakis, 2007. Small Rum. Res., 72 : 237-241.
Qi, W., R. X. Su, Z. M. He, Y.B. Zhang and F.M. Jin, 2007. ADSA, 90 : 5004-5011.
Rajagopalan, A. Vasuki A., et Bindhu O. S., 2021. *Intern. Dairy J.,* 115 : 104934, 1- 5
Rocha, G. F., Cotabarren J., Obregón W.D., Fernández G., Rosso A.M., et Parisi M.G., 2021. *Intern. J. of Bio. Macromol.* 192: 931-38.
Silva, S.V., R. M. Barros and F. X. Malcata, 2002. J. of Food Sci., 67: 1746-1751
Veisseyre R., 1979. In Technologie du lait Maison rustique, 3ème édition, refondue de techniques laitières. pp : 30-34.

OPTIMISATION DES PARAMETRES DE FLOCULATION ET DE COAGULATION DU LAIT CAMELIN AVEC LA PEPSINE DE POULET EN COMPARAISON AVEC LE LAIT BOVIN PAR LA METHODE DES SURFACES DE REPONSE

Biya BOURAS [1,2*], Ouarda AÏSSAOUI-ZITOUN[1], Férial-Aziza BENYAHIA-KRID[1], Fairouz DJEGHIM[3], Mohammed Nassereddine ZIDOUNE[3]

[1]Laboratoire du Génie Agro-Alimentaire (GENI.A.A.L), Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA). Université Frères Mentouri, Constantine-25000, Algérie.
[2]Laboratoire de recherche en Biodiversité et Application de la Biotechnologie dans le domaine Agricole (BABDA). Université d'El Oued. El Oued-39000, Algérie.
[3]Laboratoire de Recherche en Nutrition et Technologie Alimentaire (L.N.T.A.), Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA). Université Frères Mentouri, Constantine-25000, Algérie.

*bouras-biya@univ-eloued.dz

RÉSUMÉ

La pepsine de poulet, succédanée de présure est une enzyme protéolytique extraite du proventricule du poulet (*Gallus gallus*), considéré comme un sous-produit d'abattage. L'objectif de ce travail est de déterminer l'effet de la variabilité des conditions de coagulation (pH et de température) sur l'action de la pepsine de poulet dans le lait camelin en exploitant la méthode statistique des surfaces de réponse. Cette méthode a été utilisée pour étudier l'influence des variations de pH et de température sur le temps de floculation et de coagulation du lait camelin avec la pepsine de poulet en comparaison avec le lait bovin. Les treize combinaisons des paramètres donnés par la méthode de surface sont pour une variation de pH de 5 à 6.7 et de température de 30°C à 42°C. Ces combinaisons ont été utilisées pour mesurer le temps de floculation et le temps de coagulation des laits après ajout de l'enzyme. Cette méthode nous a permis de déterminer une relation d'approximation entre les variables d'entrée (pH et température) et la réponse de sortie (temps de floculation et temps de coagulation). Il y a un effet significatif du pH (effet linéaire) sur la floculation du lait camelin avec la pepsine de poulet. Pour le lait bovin, l'effet du pH est unique et quadratique positif. Concernant la coagulation, les résultats montrent que les deux types de lait sont sensibles au changement du pH avec la pepsine de poulet avec uniquement un effet linéaire pour le lait camelin et un effet linéaire et quadratique pour le lait bovin. En conclusion, cette enzyme du proventricule de poulet peut être bien valorisée dans la transformation laitière.

ABSTRACT

Optimization of the floculation and coagulation parameters of camel milk with chicken pepsin in comparison with cattle milk by the response surfaces method

Chicken pepsin, a rennet substitute, is a proteolytic enzyme extracted from the proventriculi of chicken (*Gallus gallus*), considered to be a slaughter by-product. The objective of this work is to determine the effect of the variability of the coagulation conditions (pH and temperature) on the action of chicken pepsin in camel milk by exploiting the statistical method of response surfaces. This method was used to study the influence of variations in pH and temperature on the flocculation and coagulation time of camel milk with chicken pepsin in comparison with bovine milk. The thirteen combinations of the parameters given by the surface method are for a variation of pH from 5 to 6.7 and temperature from 30°C to 42°C. These combinations were used to measure the flocculation time and the clotting time of milks after addition of the enzyme. This method allowed us to determine an approximation relationship between the input variables (pH and temperature) and the output response (flocculation time and coagulation time). For flocculation, our result shows that there is a significant effect of pH (linear effect) on the flocculation of camel milk with chicken pepsin. Whereas for cow milk, the effect of pH is unique and quadratic positive. Concerning coagulation, the results show that the two types of milk are sensitive to the change in pH with chicken pepsin with only (linear effect) for camel milk and linear and quadratic effect for cow milk. In conclusion, this enzyme from the chicken proventriculus can be well valued in dairy processing.

INTRODUCTION

La pepsine de poulet est une enzyme extraite à partir des proventricules du poulet (*Gallus gallus*) considérés comme un sous-produit d'abattage. Ces organes de longueur moyenne de 3 cm sont situés au-dessus du gésier et recouverts d'une couche d'épithélium formé de cellules cylindriques visibles à l'œil nu. Ces cellules sont responsables de la sécrétion de pepsinogène et de l'acide chlorhydrique **[1]**. La pepsine de poulet est sensible au changement de pH. En effet, l'optimum de son activité est entre pH 1,5 et 4,5. A pH 1,5 elle est active à 90%, et elle perd son activité avec l'augmentation de pH pour atteindre 35 % de son activité maximale à pH 4.5, et reste stable jusqu'à pH de 8 et elle est totalement inactivée au-delà de pH 8,5 **[2]**. La filière avicole en Algérie a connu un développement considérable suite à des politiques avicoles incitatives. Compte tenu du déficit des productions animales classiques, l'Algérie a opté pour le développement d'une production avicole intensive, cette production atteint 250000 tonnes en 2011 **[3]**. Cette évolution de la production aviaire, ainsi que l'importation continue et croissante d'enzymes coagulantes pour la transformation laitière, suggèrent à d'exploiter un des substituts de la présure bovine disponible en Algérie. Ceci est pour limiter la dépendance vis-à-vis des importations et pour mieux valoriser les pratiques et la biodiversité qu'offre notre patrimoine traditionnel. Il s'agit ici de la pepsine de poulet **[3]**.

Le lait camelin et les produits laitiers jouent un rôle important dans l'alimentation quotidienne des communautés rurales en Asie, en Afrique et au Moyen-Orient **[4]**. Ce lait contient tous les nutriments essentiels présents dans le lait de vache **[5]**. La production de lait de chamelle, journalière et annuelle, en Algérie est respectivement de 3 kg/j et 1,460 kg/an **[6]**. La coagulation de ce lait est connue pour être très difficile **[7 ,8]**. L'aptitude à la coagulation du lait de chamelle avec de la présure bovine et des enzymes gastriques de dromadaire a été étudiée des essais préliminaires dont les résultats ont été probants **[9,10,11]**. La disponibilité du proventricule et probablement son cout dérisoire seraient des arguments valables pour proposer ce type de valorisation en Algérie **[3]**. Dans ce travail, notre objectif est l'optimisation de deux paramètres clé la coagulation (pH et température) du lait camelin avec la pepsine de poulet en comparaison avec le lait bovin.

1.MATERIELS ET METHODES

1.1. Matériel

1.1.1. Lait : Les échantillons du lait de chamelle ont été collectés à partir de troupeaux de dromadaires de race Sahraoui, en élevage extensif dans des parcours naturels de la région d'El Oued (Sud-Ouest de l'Algérie).

Le lait a été acheminé directement après la traite dans une glacière contenant des glaçons au laboratoire, puis conservés à -18°C jusqu'à utilisation. Les échantillons de lait de vache utilisés dans notre étude, provenaient d'une ferme localisée dans la même région. Le substrat standard de BERRIDGE a été préparé en dissolvant 12 g de poudre de lait écrémé dans 100mL d'une solution de chlorure de calcium 0,01 M **[12]**. Le lait en poudre écrémé (1Kg) provenait de la laiterie SoufLait (El Oued). Le lait ainsi préparé a été stocké à 4°C pendant 12 h afin de permettre l'établissement de l'équilibre physico-chimique. Il a été utilisé pour étudier l'activité coagulante de la pepsine de poulet et le temps de la floculation.

I.1.2. Pepsine de poulet : La pepsine de poulet est préparée à partir de proventricules. Les proventricules de 8 et 10 g, ont été récupérés après abattage, incisés, puis rincés à l'eau et répartis en lots de 100 g. Ils ont été utilisés pour l'extraction de l'enzyme en suivant le protocole proposé par **Bohak (1970) [13]** cité par **Nouani *et al.* (2011) [14]**. Les proventricules hachés ont été mis dans une solution saline de macération (30 g/L de NaCl et 7g/L de $NaHCO_3$), à raison de 300 mL de la solution de macération pour 100g de proventricules. Après 3h de macération sous agitation, le pepsinogène a été activé par ajout d'HCl (3N) jusqu'à pH=2. Ensuite, le mélange a été maintenu à température ambiante pendant 15 minutes, puis filtré pour récupérer l'extrait brut de pepsine de poulet. Le filtrat a enfin été centrifugé (à 3200g pendant 30 min à 4°C; centrifugeuse SEGMA model 3-30K, Allemagne). Le pH du surnageant obtenu a été ajusté à pH 6,4 par une solution de NaOH (3N). Il représentait l'extrait de pepsine clarifiée.

1.2. Méthodes

1.2.1. Caractérisation de l'extrait enzymatique

L'unité d'activité coagulante a été évaluée dans le substrat standard de Berridge à 30°C **[12]** et la force coagulante a été exprimée en force coagulante de Soxhlet **[15]** qui correspond au volume de lait coagulé par unité de volume de l'extrait enzymatique en 40 minutes, à 35°C et pH 6,4 du lait cru. La teneur en protéines a été déterminée selon la méthode de Kjeldahl **(ISO 8968-1)**. Le temps de coagulation correspond au moment où apparaissent les premières gouttelettes du lactosérum sur la surface du gel, le coagulum devient rigide et ne coule plus sur les parois du tube **[13]**. Ce temps de coagulation est réalisé directement sur le lait cru à 35°C. Selon la **(FAO, 2005)**, la coagulation enzymatique ou le temps de prise est entre 25 et 30 min.

L'activité spécifique des enzymes est exprimée par le rapport entre l'activité coagulante de l'extrait enzymatique et le taux de protéines de cet extrait

enzymatique est exprimée en UP (unité présure) /mg **[16]**.

1.2.2. Optimisation du temps de floculation et de la coagulation de pepsine de poulet

Dans le but d'optimiser les meilleures conditions de pH et de température pour la coagulation du lait camelin et du lait bovin par la pepsine de poulet et aussi de minimiser le nombre d'expérimentation, nous avons choisi d'utiliser la méthode statistique du plan d'expérience. Cette méthode nous permet de fixer les paramètres d'expérimentation en fonction des limites des variables étudiées. Les résultats sont schématisés par la méthode des surfaces de réponse (MSR). Un plan composite central à deux facteurs a été étudié à cinq niveaux (-α, -1, 0, +1, +α). Les treize couples donnés correspondent à une gamme de pH entre 5 et 6.7 et une gamme de température entre 30°C et 42°C.

La modélisation de la réponse a été réalisée à l'aide de techniques de régression qui permettent de relier les réponses « Y » aux facteurs « X_1 » et « X_2 » selon les relations suivantes : $Y = f(X_1, X_2)$. Le comportement des surfaces de réponse des deux formulations a été expliqué par le modèle de second ordre selon l'équation suivante :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X^2_1 + b_{22}X^2_2 + b_{12}X_1X_2$$

Y : représente la fonction de réponse ;

b_0 : est une constante qui exprime l'effet moyen général ;

b_1 et b_2 : sont les coefficients des effets linéaires ;

b_{11}, et b_{22} : sont les coefficients des effets quadratiques ;

b_{12} : est le coefficient des effets interaction ;

X_1 et X_2 : représentent les variables codées indépendantes.

Le logiciel MINITAB 19 est utilisé pour déterminer les coefficients pour chaque réponse. Le degré de signification des coefficients a été déterminé à l'aide de la valeur de *p*, le seuil de significativité a été fixé à 0,05, le d entre 0,7 et 1 et le R^2 entre 50% et 100%.

La représentation graphique de ces équations a été effectuée, en utilisant le logiciel statistique STATISTICA 10.

Dans notre étude, nous avons fixé les valeurs cibles de (200s) pour la floculation, c'est le temps pour nécessaire pour calculer l'activité coagulante et de 15 min (900s) pour la coagulation **[17].**

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Caractéristiques de l'extrait enzymatique

Les caractéristiques de l'extrait enzymatique (teneur en protéines, activité coagulante, force coagulante, activité spécifique et temps de coagulation) utilisées dans notre étude sont présentées dans le **tableau 1**.

L'extrait enzymatique de pepsine de poulet a une teneur en protéine de 20±0,00 mg/mL ce qui est en accord avec les résultats de **Siar (2014) [18]**. Elle est supérieure à la valeur rapportée par **Adoui (2007) [19]** et **Aïssaoui-Zitoun et *al* (2017) [20]** et inférieure à celle rapportée par **Benyahia-Krid (2013) [3]**. L'activité coagulante était de 1,98±0,02 $UP.mL^{-1}$, elle est proche de la valeur rapportée par **Aïssaoui-Zitoun et *al* (2017) [20]** qui est de 2,613 $UP.mL^{-1}$. La pepsine de poulet a une force coagulante de 1/6153,85 US. Si l'on regarde le temps de coagulation, le lait bovin réagit mieux avec la pepsine que le lait camelin.

2.2 Optimisation de l'activité enzymatique

2.2.1 Effet du pH et de température sur le lait camelin

Le diagramme de surface du temps de floculation et de coagulation du lait camelin par la pepsine de poulet est illustré dans la **figure 1**.

Le pH a eu un effet significatif sur la floculation du lait camelin avec la pepsine de poulet. En effet, le coefficient de régression b_1 présente une valeur de *P* inférieure à 0,05 (0,004). Pour la coagulation, le pH a eu aussi un effet significatif avec la pepsine de poulet dont le coefficient de régression b_1 présente une valeur de *P* inférieure à 0,005 (0,003).

Le lait camelin semble sensible à la variation du pH avec la pepsine de poulet (effet linéaire).

En se basant sur la figure 1, on propose un couple de pH et de température pour un temps de floculation et de coagulation optimale du lait camelin : (X_1=5/X_2=42).

2.2.2 Effet du pH et de température sur le lait bovin

Le diagramme de surface du temps de floculation et de coagulation du lait camelin par la pepsine de poulet est présenté dans la figure 2.

Les résultats montrent l'effet linéaire du pH et l'effet quadratique positif sur la floculation du lait bovin par la pepsine de poulet où la valeur du *P* du coefficient de régression b_1 est (0,00) et b_{11} est (0,00) présentent des valeurs de *P* inférieures à 0,05. Concernant la coagulation, le pH a un effet significatif linéaire et quadratique (effet positif). Les coefficients de régression b_1 et b_{11} présentent une valeur de *P* inférieure à 0,05 : b_1 (0,010) et b_{11} (0,003).

Le lait bovin, semble également sensible à la variation du pH avec la pepsine de poulet (effet linéaire et quadratique).

En se basant sur la figure 2, on propose respectivement un couple de pH et de température pour un temps de floculation et de coagulation optimale du lait bovin : (X_1=5,49/X_2=39,45) et (X_1=5,82/ X_2=42).

CONCLUSION

La pepsine de poulet est une enzyme qui peut être valorisée dans la coagulation du lait camelin. Cela offre la possibilité de varier les produits laitiers camelines principalement dans les zones semi-arides et arides de l'Algérie. Le proventricule de poulet,

source de l'enzyme, est un co-produit de l'industrie de poulets, qu'il est facile de se procurer tout au long de l'année. La pepsine peut être valorisée dans l'industrie agro-alimentaire, notamment fromagerie. Grâce à l'optimisation du pH et de la température de la coagulation, le lait camelin peut passer d'une valorisation traditionnelle à une valorisation industrielle.

REFERENCES

1. Alamareot J, 1982. Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaire (Edition du point vétérinaire-Alfort), pp 289.
2. Bohak Z, 1969. J. biological chemistry. Vol 244, N°17, pp 4638-4648.
3. Benyahia-Krid F.A, 2013. Extraction de la pepsine et utilisation dans la coagulation du lait en vue d'une valorisation des proventricules de volailles au profit de la filière lait en Algérie, Thèse doctorat en sciences, Université Mentouri Constantine.
4. Pak V.V., Khojimatov O.K., Abdiniyazova G.J., Magay E.B, 2019. J. Ethn. Foods, 6:20.
5. Al haj 0.A., Al Kanhal H.A, 2010. Int. Dairy J, (20), 811-821.
6. Farah Z, 2011. Camel Milk, In Encyclopedia of Dairy Sciences (2nd ed.) Editor-in-Chief, pp 512-517.
7. Farah Z., Bachman M.R, 1987. Milchwissenschaft, (42), 689-692.
8. Ramet J.P,1993. Production et santé animales, Etude F.A.O, pp113.
9. Wangoh J., Farah Z., Puhan Z, 1993. Milchwissenchaf Milk Sci. Int., (48), 322-325.
10. Gorban A.M.S., Izzeldin O.M, 1997. In J. Dairy Technol, (64), 471-474.
11.Siboukeur O., Mati A., Hessas B, 2005. Cahiers agricultures vol 14, N° 5, septembre-octobre, 5(14), pp 473- 478.
12.Alais C, 1974. Principes des techniques laitières : science du lait (Ed Publicité, Paris), pp 513.
13. Bohak Z, 1970. Methods in enzymology, Proteolytic Enzymes. (Ed G. E). Perlmann and L. Lorand, Acad. Press Inc., New York, V 19. 1042, pp 347-358.
14. Nouani A., Hamrani L., Bellal M. M, 2011. Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 29 et 30 mars.
15. Veisseyre R,1979. Technologie du lait, maison rustique (3éme édition refondue de techniques laitière), pp 715.
16. Nouani A., Dako E., Morsli A., Belhamiche N., Belbraouet S., Bellal M.M., Dadie A, 2009.J. Food Technol., 7: 20-29. Nutrition, (39), pp 1-13.
17. Ramet J.P, 1994. Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie.
18. Siar E.H, 2014. Utilisation de la pepsine de poulet et de la ficine du figuier comme agents coagulants du lait. Mémoire de magister, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaire, Université Mentouri Constantine 1.
19.Adoui F, 2007. Extraction d'enzyme Coagulant le lait à partir de proventricules de poulet, Mémoire de magister en sciences, Université Mentouri, pp 97.
20. Aïssaoui-Zitoun O., Benyahia-Krid F.A., Arar L., Korichi D., Boughellout H., Adoui F., Siar E.H., Harkati A., Zidoune M.N, 2017. Utilisation de la pepsine de poulet dans la coagulation du lait de chamelle, Douzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 05 et 06 avril 2017.

Tableau 1. Principales caractéristiques de l'extrait enzymatique.

Enzyme	Protéine (mg/ml)	Activité coagulante ($UP.ml^{-1}$)	Activité spécifique ($UP.mg^{-1}$)	Force coagulante (US)	Temps de coagulation (s)	
					Lait camelin	Lait bovin
Pepsine de poulet	20±0,00	1,98 ± 0,02	0,1± 0,01	1/6153,85	119,4±0,6	88,2±4,2

Figure 1 : Diagramme de surface du temps de floculation et de coagulation du lait camelin par la pepsine de poulet.

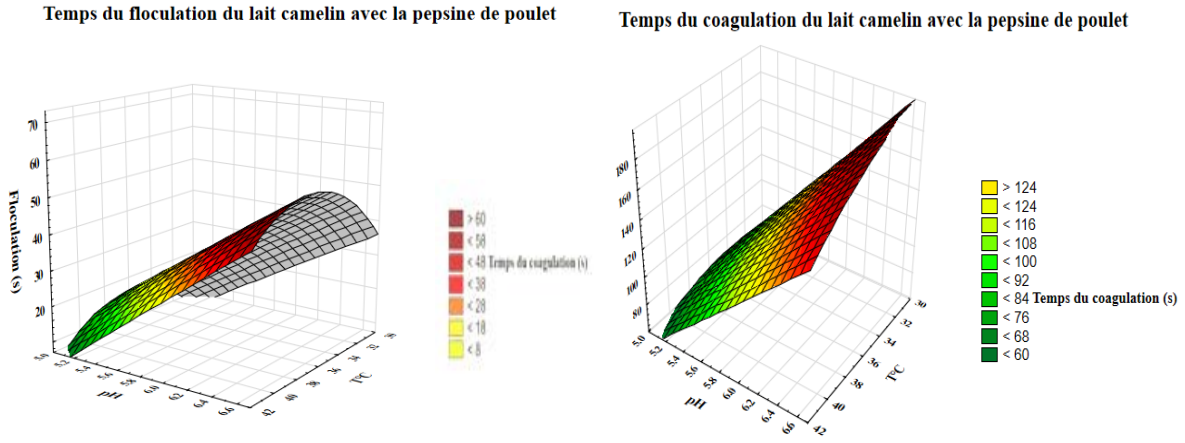
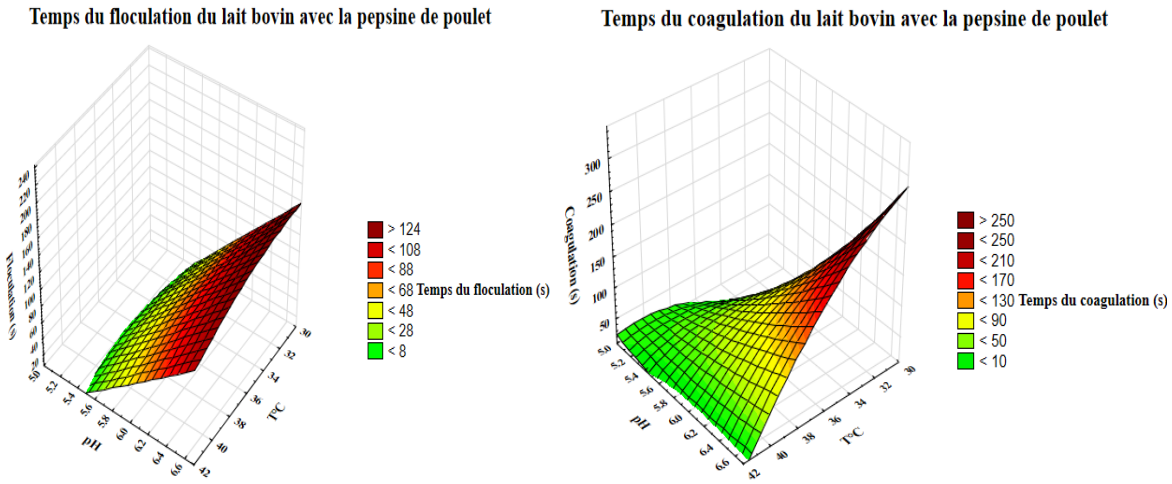


Figure 2 : Diagramme de surface du temps de floculation et de coagulation du lait bovin par la pepsine de poulet.



14èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras
Les 09 et 10 mars 2022 à Tours

OPTIMISATION DES PARAMETRES DE FLOCULATION ET DE COAGULATION DU LAIT CAMELIN AVEC LA PEPSINE DE POULET EN COMPARAISON AVEC LE LAIT BOVIN PAR LA METHODE DES SURFACES DE REPONSE

Biya BOURAS [1,2*], Ouarda AÏSSAOUI-ZITOUN[1], Férial-Aziza BENYAHIA-KRID[1], Fairouz DJEGHIM[3], Mohammed Nassereddine ZIDOUNE[3]

[1]*Laboratoire du Genie Agro-Alimentaire (GENI.A.A.), Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA). Université Frères Mentouri, Constantine*

[2]Laboratoire de recherche en Biodiversité et Application de la Biotechnologie dans le domaine Agricole (BABDA). Université d'El Oued. El Oued-39000, Algérie.

[3]*Laboratoire de Recherche en Nutrition et Technologie Alimentaire (L.N.T.A.), Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA). Université Frères Mentouri, Constantine Route Ain El Bey, Constantine-25000, Algérie.*

*bouras-biya@univ-eloued.dz

Résumé

La pepsine de poulet, succédanée de présure est une enzyme protéolytique extraite du proventricule du poulet (Gallus gallus), considérés comme un sous-produit d'abattage. L'objectif de ce travail est de déterminer l'effet de la variabilité des conditions de coagulation (pH et de T°) sur l'action de la pepsine de poulet dans le lait camelin en exploitant la méthode statistique des surfaces de réponse. Cette méthode a été utilisée pour étudier l'influence des variations de pH et de T° sur le temps de floculation et de coagulation du lait camelin avec la pepsine de poulet en comparaison avec le lait bovin. Les treize combinaisons des paramètres donnés par la méthode de surface sont pour une variation de pH de 5 à 6.7 et de température de 30°C à 42°C. Ces combinaisons ont été utilisées pour mesurer le temps de floculation et le temps de coagulation des laits après ajout de l'enzyme. Cette méthode nous a permis de déterminer une relation d'approximation entre les variables d'entrée (pH et T°) et la réponse de sortie (temps de floculation et temps de coagulation). Pour la floculation, la pepsine de poulet réagit mieux avec le lait bovin (R2 = 95,58%) comparativement avec celle du lait camelin (R2 = 76,16%). Notre résultat montre qu'il y a un effet significatif du pH (effet linéaire) sur la floculation du lait camelin avec la pepsine de poulet (le coefficient de régression b1 présente une valeur de P 0,004 et inférieur à 0,05). Alors que pour le lait bovin, l'effet du pH est unique (la valeur P de b1=0,00) et quadratique positif (la valeur P de b11=0,00). Concernant la coagulation, les résultats montrent que les deux types de lait sont sensibles au changement du pH avec la pepsine de poulet (effet linéaire) seulement pour le lait camelin et effet linéaire et quadratique pour le lait bovin). En conclusion, cette enzyme du proventricule de poulet peut être bien valorisée dans la transformation laitière.

Mots clé : Pepsine de poulet, lait camelin, lait bovin, coagulation, paramètres, surface de réponse

Introduction

La pepsine de poulet est une enzyme extraite à partir des proventricules du poulet (*Gallus gallus*) considérés comme un sous-produit d'abattage. Ces organes de longueur moyenne de 3 cm, situé au-dessus du gésier recouvert d'une couche d'épithélium formé de cellules cylindriques visibles à l'œil nu. Ces cellules sont responsables de la sécrétion de pepsinogène et de l'acide chlorhydrique **[1]**. La production de lait de chamelle, journalière et annuelle, en Algérie est respectivement 3 kg/j et 1,460 kg/an **[2]**. La coagulation de ce lait est connue pour être très difficile et très **[3 ,4]**. Elle a été particulièrement explorée par des essais préliminaires avec la présure bovine et avec les enzymes gastriques de dromadaire dont les résultats ont été probants **[5,6,7]**. Ces premiers résultats sont encourageants, mais le problème de cette coagulation persiste toujours et nécessite une enzyme moins couteuse et plus disponible.

Dans ce travail, notre objectif est l'optimisation de la coagulation du lait camelin avec la pepsine de poulet en comparaison avec le lait bovin.

Méthodes

Extraction de pepsine de poulet

Proventricule (100 g)



↓

Extraction en 300 mL (30 g NaCl - 7 g $NaHCO_3$ par litre de solution)

↓

Broyage et filtration

↓

Activation de l'extrait enzymatique à pH 2 pour 30 min

↓

Centrifugation et stabilisation de pH à 6.6

↓

Extrait enzymatique de pepsine



Caractérisation de l'extrait enzymatique

U.A.C. = 10 .V / T.V' → Activité coagulante



↓

Temps de coagulation

↓

F = 2400 .V / T.v' → Force coagulante



↓

Teneur en protéines

↓

Activité spécifique

Optimisation de pH et de température

Un plan composite centrale à deux facteurs est étudié à cinq niveaux ($-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$). Les treize couples donnés correspond une gamme de pH entre (5 et 30) et une gamme de température entre (30°C et 42°C).

La modélisation de la réponse est réalisée à l'aide de techniques de régression qui permettent de relier les réponses « Y » aux facteurs « X_1 » et les facteurs « X_2 » selon les relations suivantes : $Y = f(X_1, X_2)$.

Le comportement des surfaces de réponse des deux formulations a été expliqué par le modèle de second ordre selon l'équation suivante :

$$Y = b0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X^2_1 + b_{22}X^2_2 + b_{12}X_1X_2$$

Y : représente la fonction de réponse ;
b_0 : est une constante qui exprime l'effet moyen général ;
b_1 et b_2 : sont les coefficients des effets linéaires ;
b_{11}, et b_{22} : sont les coefficients des effets quadratiques ;
b_{12} : est le coefficient des effets interaction ;
X_1 et X_2 : représentent les variables codées indépendantes.

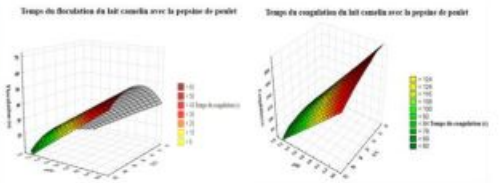
Résultats

Caractéristiques de l'extrait enzymatique

	Pepsine de poulet
Activité coagulante (UP.mL^{-1})	1,98 ± 0,02
Force coagulante	1/6153,85
Teneur en protéines (mg/mL)	20 ±0,00
Activité spécéfique (US)	0,1±0,01
Temps de coagulation	
Lait camelin	119,4±0,6
Lait bovin	88,2±4,2

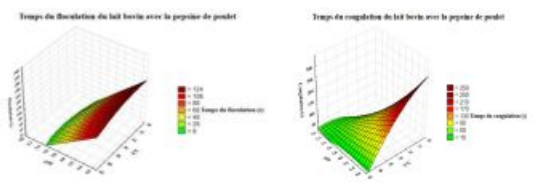
Optimisation de pH et de température

Floculation et coagulation du lait camelin



- Le lait camelin est sensible à la variation du pH avec la pepsine de poulet (effet linéaire, *p* de b1 <0,005);
- En se basant sur les figures, on propose un couple de pH et de température pour un temps de floculation et de coagulation optimale du lait camelin : (X1=5/X2=42).

Floculation et coagulation du lait bovin



- Le lait bovin est sensible à la variation du pH avec la pepsine de poulet (effet linéaire et quadratique, *p* de b1 et b11 <0,005);
- En se basant sur les figures, on propose respectivement un couple de pH et de température pour un temps de floculation et de coagulation optimale du lait bovin : (X1=5,49/X2=39,45) et (X1=5,82/X2=42).

Conclusion

Le proventricule de poulet, source de l'enzyme, est un co-produit de l'industrie de poulets, qu'il est facile de se procurer tout au long de l'année et nécessite une meilleure valorisation dans l'industrie agro-alimentaire, notamment dans celle de la fromagerie. A partir l'optimisation de pH et de température de la coagulation, l'utilisation du lait camelin offre la possibilité de le valoriser de l'échelle traditionnelle vers l'échelle industrielle.

Références

1.Alamareot J. (1982). Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaire, édition du point vétérinaire-Alfort. P 289.
2. Farah Z., 2011. Camel Milk, In Encyclopedia of Dairy Sciences, (2nd ed.) Editor-in-Chief. P :512-517.
3. Farah Z., Bachman M.R. (1987).In Milchwissenschaft, (42), 689-692.
4.Ramet, J.P. (1993). Etude F.A.O., Production et santé animales. P113.
5. Wangoh J., Farah Z., Puhan Z. (1993). Extraction of camel rennet and its comparison with calf rennet extract. Milchwissenchaf Milk Sci. Int., 48: 322-325.
6. Gorban A.M.S., Izzeldin O.M. (1997). In J. Dairy Technol. (64), 471-474.
7.Siboukeur O., Mati A., Hessas B. (2005). Amélioration de l'aptitude à la clotting du lait cameline (*camelus dromedarius*) : utilisation d'extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires. Cahiers agricultures vol. 14, n° 5, septembre-octobre.5(14) P: 473- 478.

Comité de Lecture des 14èmes Journées de la Recherche Avicoleet Palmipèdes à Foie Gras

ALLEMAN Fabien
ANTON Marc
ARNOULD Cécile
BAEZA Elisabeth
BASTIANELLI Denis
BATONON ALOVO Dolores
BELLOC Catherine
BERRI Cécile
BERTIN Joël
BETHUEL Jean-Charles
BIGNON Laure
BLANCHET Magali
BOICHARD Michelle
BONNIEU Anne
BOUCHARDON Anne
BOURIN Marie
BOUVAREL Isabelle
BOUZIDI Mohamed
CARRE Patrick
CHIRON Geoffrey
COLLIN Anne
CORSON Michael
DELAQUEZE Carole
DEMEURE Olivier
DIOT Christian
DUFLOT Boris
DUVAL Elisabeth
FABLET Julien
FERNANDEZ Xavier
GABRIEL Irène
GAUTRON Joël
GAVARET Thierry
GEIGER Francis
GERAERT Pierre-André
GRASLAND Béatrice
GRAULET Benoit
GUABIRABA-BRITO Rodrigo
GUERINI Céline
GUERRE Philippe
GUESDON Vanessa
GUILLOTEAU Laurence
GUINEBRETIERE Maryse
GUYOT Nicolas
KEITA Alassane
HAZARD Dominique
HERAULT Frédéric
HURTAUD Catherine
JONDREVILLE Catherine
JUIN Hervé
KEMPF Isabelle
LAMOTHE Laurence
LEFORT Anne-Christine
LE LAY Aymeric
LE ROY Pascale
LEBLANC-MARIDOR Mily
LE BOUQUIN Sophie
LEMARECHAL Caroline
LEMIERE Stéphane
LETERRIER Christine
LITT Joanna
MAHE Félix
MARCON Michel
MARGUERIE Jocelyn
MATHIAUD Adeline
MEDA Bertrand
METAYER-COUSTARD Sonia
MICHEL Virginie
MIGNON-GRASTEAU Sandrine
MIKA Amandine
MOLETTE Caroline
NARCY Agnès
NICOLAS Christian
OLIVEROS ROMERO Susana
PAMPOUILLE Eva
PANHELEUX Marina
PARAUD Céline
PAUL Mathilde
PEYRAUD Jean-Louis
PLANCHON Stella
PRUNIER Armelle
QUENTIN Maxime
RECOQUILLAY Julien
RECOULES Emilie
REHAULT GODBERT Sophie
REPERANT Jean-Michel
REVERCHON Maxime
RUVOEN Nathalie
SCHOULER Catherine
SILVESTRE Anne
SIMON Gaëlle
SOUILLARD Rozenn
SOUMET Christophe
STOMP Mathilde
TESSERAUD Sophie
TOUDIC Claude
TRAVEL Angélique
TRESSE Odile
TROTEREAU Angélina
VAN MILGEN Jaap
VELGE Philippe
VILARINO Maria
WARIN Laura
WILFART Aurélie

Osez le digital avec Porphyrio®

Porphyrio®



Big data, biostatistiques et algorithmes intelligents au service des productions avicoles.

Avec Porphyrio®, la société Evonik propose un outil de gestion performant et innovant pour la production de viande de volaille et d'œufs. Basé sur des algorithmes auto-apprenants, il utilise les données de votre entreprise pour améliorer votre processus opérationnel et vous aider à prendre les bonnes décisions sur la base de prévisions à court et long terme. Porphyrio® contribue ainsi à l'optimisation technique et économique de votre activité.

Contrôler et Comparer les données
Grâce à un tableau de bord intuitif et personnalisable vous pouvez surveiller et comparer les performances de vos élevages.

Détecter les écarts et Prédire les performances
Les biostatistiques de Porphyrio® vous permettent de prévoir l'évolution des paramètres de production dans le court terme (système d'alerte précoce) et de prédire les performances futures de vos animaux.

Organiser le travail et Planifier la mise en place des lots
Porphyrio® permet de lister l'ensemble des actions à réaliser sur les lots : activités techniques, alimentation, traitements, vaccinations, … et de planifier la mise en place des futurs lots.

Porphyrio®, un élément essentiel de l'élevage de précision par Evonik (Precision Livestock Farming).
sales@porphyrio.com
porphyrio.com

EVONIK
Leading Beyond Chemistry


CIFOG
INTERPROFESSION DU FOIE GRAS


provimi™


LDC