

CARACTERISATION DU BIOFILM DANS LES CANALISATIONS D'ELEVAGE DE VOLAILLE, ET EVALUATION DE L'EFFET DE PURGES SUR LA MAITRISE DU BIOFILM ET DE LA QUALITE DE L'EAU

Dennerly Gaëlle^{1,2}, Laravoire Anaëlle¹, Chiron Geoffrey², Warin Laura² et Travel Angélique²

¹*CHAMBRE REGIONALE D'AGRICULTURE DES PAYS DE LA LOIRE - 9 rue André Brouard – CS 70510 - 49105 Angers Cedex 2,*

²*ITAVI - 7, rue du Faubourg Poissonnière- 75009 PARIS*

gaelle.dennerly@pl.chambagri.fr

RÉSUMÉ

L'eau de boisson est le premier aliment des volailles. La qualité de l'eau peut être dégradée dans les canalisations par la présence de biofilm, dont le développement est favorisé par certaines pratiques d'élevage. La maîtrise du biofilm dans les circuits d'eau de boisson constitue un enjeu majeur dans la prévention de pathologies, la réduction de l'usage des antibiotiques et de l'antibiorésistance. L'objectif de cette étude terrain est d'évaluer l'impact de la mise en œuvre de purges au cours du lot, sur l'apparition et le développement de biofilm, sur la qualité bactériologique de l'eau, la quantité d'eau utilisée et les performances/santé des volailles. Cette démarche a nécessité la mise au point préalable d'une méthodologie d'observation et de caractérisation du biofilm présent dans les canalisations. Des scores allant de 1 à 3 sont attribués grâce à une grille photographique, permettant de caractériser l'état des canalisations à un instant t , mais également d'observer l'évolution du biofilm au cours du lot, en fonction des pratiques mises en œuvre. Afin d'évaluer l'effet de diverses fréquences de purges, 7 lots de poulets ont été suivis dans 3 fermes, et 5 bâtiments. Les premiers résultats montrent l'importance de la qualité du nettoyage et désinfection du circuit d'eau au vide sanitaire dans la maîtrise préalable du biofilm. La réalisation de purges quotidiennes et à fréquence élevée aurait tendance à retarder le développement de biofilm sur les parois des canalisations et améliore la qualité bactériologique de l'eau distribuée en bout de ligne en comparaison de circuits qui ne sont jamais purgés..

ABSTRACT

Assessment of biofilm in pipes of breeders houses, and effect of purge on biofilm mastering and water quality

Drinking water is the first feed of poultry. Biofilm can altered water quality in pipes. Its development is favored by breeding practical and conditions. Biofilm management in drinking water pipes is a major issue to prevent pathologies and to reduce antibiotic consumption and resistance. The aim of this field study is to assess the effect of purging pipes during breeding on biofilm development, water quality, amount of water used, and breeder's health. This needed to create a methodology to characterize biofilm. A scoring method was developed, each score being definite by a picture and objective definition. The charter created was used to characterize biofilm at each observation, and also in order to estimate its evolution during the breeding. 7 flocks were followed in 3 farms, within 5 houses. First results show the pipes cleaning importance before starting the flock breeding. Daily and highly frequency purges seem to delay biofilm development inside pipes when compared to never purged pipes.

1. INTRODUCTION

L'eau est le premier intrant en élevage et le premier aliment des volailles. En effet un poulet de chair boit 1,8 fois plus d'eau qu'il ne consomme d'aliment (Dennery et al., 2012). La qualité physico-chimique de l'eau (Barton, 1996) comme la qualité bactériologique (Venne, 2009) peut impacter directement la santé, le bien-être et les performances de croissance des volailles d'élevage. Cette qualité est évaluée par un ensemble d'indicateurs (ITAVI, 2007) facilement quantifiable par analyse et dont les références préconisées se basent sur la réglementation de la potabilité de l'eau pour la consommation de l'Homme (Ministère de la santé et des solidarités, 2007).

Le démarrage des volailles est une phase critique car les animaux sont jeunes, leur système immunitaire est peu développé, et leur flore intestinale se constitue en fonction de l'environnement de vie des animaux (Guérin et al., 2011). Au cours de cette période, la température du bâtiment avoisine les 32°C (Aviagen Turkeys), ce qui réchauffe l'eau dans les canalisations, favorisant ainsi la prolifération bactérienne et le développement du biofilm. Le débit d'eau est encore faible (les animaux jeunes boivent de très petites quantités d'eau, Dennery et al., 2012), augmentant de fait les effets de la température précédemment cités.

Les moyens de maîtrise de la qualité bactériologique de l'eau sont nombreux mais utilisent généralement des intrants chimiques (produits de désinfection et/ou de nettoyage : chlore, peroxyde, acides...), voire de l'équipement relativement coûteux et/ou contraignant à utiliser (purges, flushing air/eau, hérissons...) (ITAVI, 2010). La présence de biofilm est raisonnablement associée à une dégradation de la qualité bactériologique de l'eau par les experts, mais cela n'a jamais été vérifié. L'étape préliminaire de cette étude propose ainsi d'utiliser la présence de biofilm comme un indicateur de la qualité de l'eau en mettant au point une grille d'évaluation et de caractérisation du développement du biofilm par observation à l'intérieur des canalisations à l'aide d'une caméra endoscopique.

La purge régulière à haute pression des canalisations d'abreuvement semble être un levier d'action prometteur dans la maîtrise du biofilm en cours d'élevage mais elle est encore très peu étudiée en aviculture alors qu'elle est *a priori* simple à mettre en œuvre et sans usage d'intrants (produits de traitements notamment). Cependant les bénéfices de cette technique et les modalités de mise en œuvre pour une efficacité optimale n'ont jamais été caractérisés en élevage. L'objet de cette étude est donc de générer des premières données pour évaluer l'intérêt de la purge haute pression dans la maîtrise du biofilm et de la qualité d'eau, pour à termes proposer des

préconisations techniques (fréquence X durée) permettant d'obtenir le meilleurs compromis entre l'efficacité de la purge, le coût de l'eau et le temps de travail.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Elaboration de la grille de caractérisation du biofilm

L'objectif était d'obtenir une grille avec peu de catégories discriminantes pour faciliter son utilisation par tous. Seuls des systèmes d'abreuvements de type « pipettes » ont été inclus dans l'étude pour limiter les variations.

2.2. Evaluation de l'effet des purges et de leur fréquence sur le développement du biofilm et la qualité de l'eau

Au total, 7 lots ont été suivis, dans 5 bâtiments différents appartenant à 3 exploitations. Des suivis complémentaires se poursuivent actuellement pour compléter ces essais préliminaires. Les modalités de mise en œuvre du nettoyage et désinfection des canalisations au vide sanitaire ont été recueillies, mais non imposés aux éleveurs. Les pratiques de fréquences de purges ont par contre été des critères d'inclusion des élevages dans l'étude. Les visites ont eu lieu dans la mesure du possible à J0, J4, J7, J10, J14, J20, J28, pour caractériser le biofilm en bout de ligne (scores), la qualité bactériologiques et physico-chimique de l'eau, et la santé digestive des volaille (par le marqueur « taux de fientes humides »). Les éléments recueillis en fin de lot sont la consommation quotidienne d'eau et d'aliment, la fiche d'élevage, et la fiche de résultat de lot.

2.3. Les méthodes d'enregistrement des indicateurs

Les observations ont toutes été réalisées dans les 2h suivant la purge dans les bâtiments concernés. L'eau était d'abord prélevée pour analyse avant réalisation des observations à l'endoscope. Enfin les fientes étaient observées.

Pourcentage de fientes humides avec l'Elancobox : Deux boîtes ont été disposées dans le bâtiment toute la durée du lot pour permettre aux animaux de s'y habituer. Le papier spécifique a été installé par l'éleveur entre 2 et 3 heures avant le passage de l'observateur pour le relevé. L'alvéole d'humidité a été observée pour 5 à 20 fientes individualisables par papier, à chaque passage de l'observateur. Le taux de fientes humides (%FH) est donc calculé pour les deux boîtes d'un même bâtiment à chaque passage de l'observateur (Bostvironnois C., 2003).

Observation et caractérisation du biofilm: une caméra endoscopique (DNT FINDOO Micro-caméra pour endoscope industriel avec microsonde 4,5mm) a été insérée en bout de ligne, des deux côtés d'une

même ligne d'abreuvement dans chaque bâtiment, soit en enlevant le dernier pointeau de pipette, soit en dévissant le bouchon de bout de ligne lorsque c'était possible. L'eau n'était pas coupée pour une observation à contre-courant. L'objectif de la caméra était enfoncé lentement le plus loin possible (env. 50 - 60 cm) en suivant le protocole établi lors de la création de la grille de caractérisation (cf 3.1.).

Prélèvement d'eau pour analyse : A J0, lors de la mise en place des animaux, des analyses physico-chimiques et bactériologiques ont été réalisées à l'entrée de l'exploitation (sortie forage ou réseau public), au niveau du sas d'entrée des bâtiments, ainsi qu'en bout de ligne. Puis à J7, J14, J28, seules des analyses bactériologiques d'eau ont été faites en bout de ligne. Les prélèvements ont été réalisés dans des flacons *ad hoc*, après avoir désinfecté l'embout de sortie et laissé couler l'eau 1 min. Une eau était considérée comme non satisfaisante (score 1) si au moins deux des critères bactériologiques dépassaient les préconisations habituelles. Le cas échéant le score 0 était attribué pour une analyse satisfaisante.

2.4. Les élevages

Les 5 bâtiments suivis, équipés de pipettes de deux marques différentes, appartenaient à 3 élevages équipés en partie de systèmes de purges automatiques, déclenchées automatiquement par le boîtier de régulation aux fréquences et horaires définis par les éleveurs. Ici, la purge consistait en un rinçage sous pression des canalisations qui restent en eau.

Elevage A (1 lot de poulets lourds suivi) : un bâtiment équipé d'un système de purge automatique mais qui est déclenché manuellement durant 45 sec. par ligne. La fréquence de purge appliquée varie au cours du lot : semaine 1 : 6 purges par jour, semaine 2 : 4 purges par jour, puis 2 par jour jusqu'à la fin du lot. Elevage B (4 lots de poulets standards suivis) : deux bâtiments. La purge dans le bâtiment test est réalisée une fois par jour automatiquement, 2 min par ligne durant 10 jours puis uniquement après administration de produits. Elevage C (2 lots de poulets exports suivi) : deux bâtiments. La fréquence de purge dans le bâtiment test est quotidienne à partir de J3 et d'une durée de 10 min par ligne. Dans les élevages B et C, le bâtiment témoin n'a aucune purge.

2.5. Les analyses réalisées

Cette étude préliminaire comportant trop peu de données, toutes issues d'élevages commerciaux donc avec de nombreux facteurs de variation, il n'est pas possible de réaliser des analyses statistiques. Néanmoins les relations des indicateurs de suivi ont été observées pour tenter de dégager des tendances. Les tendances qui seront ainsi identifiées devront néanmoins être confirmées par des suivis plus approfondis en cours de réalisation.

3. RESULTATS

3.1. Mise au point de la grille de caractérisation du biofilm

3 lots issus de 2 élevages (A et B) ont été suivis simultanément pour élaborer cette grille. 3 critères de description ont été retenus à partir de la diversité des situations rencontrées :

- le **degré de colonisation** du biofilm caractérisé par la surface à l'intérieur des canalisations recouverte par le biofilm et son épaisseur.
- le degré de colonisation du biofilm à l'**arrière des pointeaux de pipettes** par rapport au sens de circulation de l'eau (l'angle est une zone difficilement nettoyable car à l'abri de la pression lors des purges et rinçages).
- **présence de particules de biofilm en suspension** dans l'eau qui s'écoule.

Un protocole détaillé pour réaliser les observations correctement a donc pu être établi. : « Rentrer la fibre optique dans la canalisation en bout de ligne sans couper l'eau. Observer les éventuelles particules. Le plus loin possible (longueur du câble), observer l'angle à l'arrière du pointeau de pipette le plus proche. Retirer lentement la caméra en observant les parois et l'éventuelle trace laissée dans le biofilm par la caméra pour estimer son épaisseur ainsi que la répartition du biofilm. »

Pour chacun de ces 3 critères, des catégories (scores) ont été établies afin de caractériser le biofilm de manière objective. Elles correspondent à l'état neuf des canalisations (score 0 : niveau bas), et à un niveau d'encrassement le plus élevé observé (score 2 : niveau haut). Une situation intermédiaire a également été définie. La grille de caractérisation du biofilm (cf. figure 1) a été utilisée pour la suite des essais.

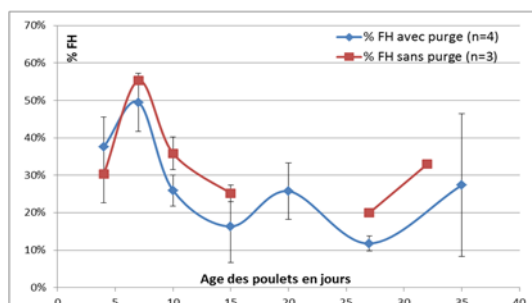
Figure 1 : Grille de caractérisation du biofilm dans les canalisations d'abreuvement type « pipettes »

	Score 0	Score 1	Score 2
Surface de canalisation couverte + Epaisseur de biofilm	< 30% de la surface Fable épaisseur (<1mm) 	> 30% de la surface Fable épaisseur (<1mm) 	> 30% de la surface Epaisseur importante (> 1mm) 
Angle derrière la pipette occupé par le biofilm	< 10% de l'angle 	De 10 à 50% de l'angle 	> 50% de l'angle 
Particules de biofilm en Suspension	Pas de particules en suspension 	Petites particules : Taille < à l'écran de la caméra 	Grosses particules : Taille ≥ à l'écran de la caméra 

3.2 Effet de la réalisation de purges sur l'évolution du taux de fientes humides

Le taux de fientes humides est représentatif de l'état de santé des animaux qui peut, entre autres, être impacté par la qualité de l'eau.

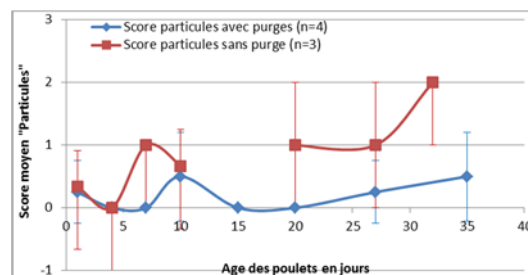
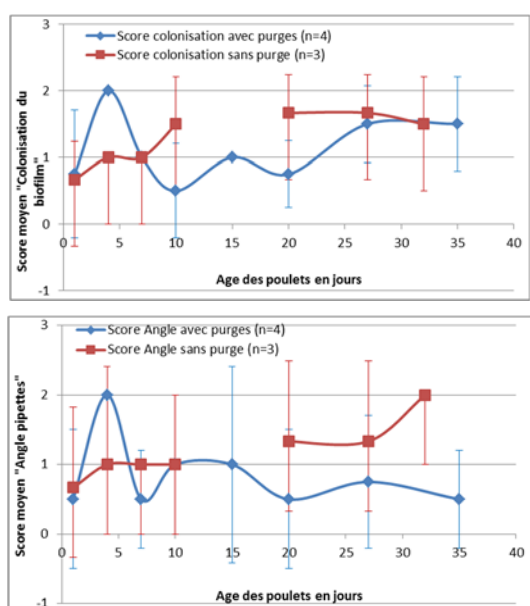
Figure 2 : Evolution moyenne du taux de fientes humides (% FH) avec ou sans purges



Les lots témoins (sans purge) ont un taux de fientes humides en moyenne plus élevé que les lots tests (avec purges). Cependant des problèmes sanitaires sont survenus sur 2 lots témoins sur 3 et 2 lots tests sur 4. L'observation du taux de mortalité est donc également importante. Le taux de mortalité moyen des lots témoins ($4,77\% \pm 5,7\%$) est en moyenne plus élevé que les lots tests ($1,81\% \pm 1,1\%$). Les écarts types ne permettent pas de conclure à une différence. La présence de problèmes pathologiques sur certains lots peut également impacter ces résultats. On ne peut donc pas conclure à une amélioration de la santé animale en lien avec la réalisation ou non de purges.

3.3. Effet de la réalisation de purges sur l'évolution du biofilm

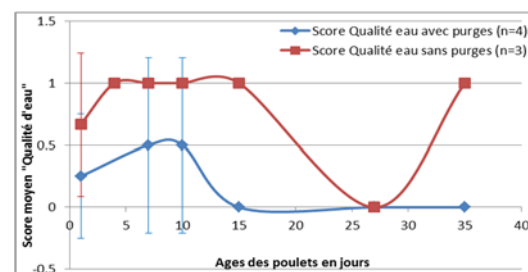
Figure 3, 4 et 5 : Evolution de la moyenne des scores « Colonisation du biofilm », « Angle à l'arrière d'une pipette » et « Particules » avec ou sans purges.



Les scores de colonisation, d'angle et de particules des lots témoins sont systématiquement supérieurs aux lots essais, notamment à compter de 7 jours d'âge. Selon ces premiers résultats, la réalisation de purges régulières ne supprime pas complètement le biofilm, mais semble limiter son développement, notamment à l'issue de la période de démarrage.

Les enregistrements de la fiche d'élevage indiquent que les lots essais et témoins ont chacun reçu la même supplémentation prophylactique par l'eau de boisson au sein de chaque élevage. Cela ne peut donc pas jouer sur les différences observées. Néanmoins, les 2 lots témoins avec problème sanitaire ont été traités avec des antibiotiques lors du démarrage. Les antibiotiques pourraient avoir une action biocide sur le biofilm en le détruisant, et facilitant son décollement. Cela expliquerait pourquoi le niveau de colonisation du biofilm au démarrage semble proche entre les deux profils d'élevage.

Figure 6 : Evolution du score moyen de la qualité bactériologique de l'eau en bout de ligne



Les lots témoins ont globalement tendance à avoir une qualité d'eau plus détériorée que les lots essais, notamment lors de la phase du démarrage (0-10j). La présence plus importante de biofilm dans les lots témoins à partir de 10 jours pourrait donc s'expliquer par une eau de qualité non satisfaisante dès le démarrage. Ainsi il serait la conséquence de la présence de micro-organismes dans l'eau d'abreuvement dès le démarrage. Selon Venne, 2009, son développement est facilité par une température élevée et un débit faible, favorisant ainsi son adhésion à l'intérieur des canalisations.

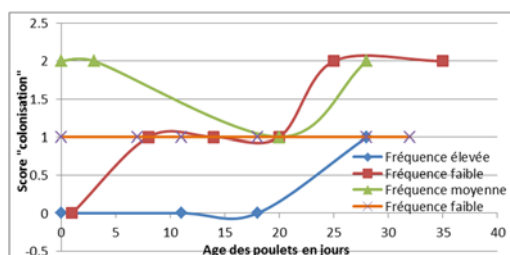
On remarque sur les figures 3, 4 et 5 que le biofilm est présent dès J0, à l'arrivée des poussins. Lors du diagnostic initial, il a été montré que les élevages A et B avaient une eau dure ($> 20^\circ\text{F}$ après traitement). L'élevage C avait une eau ferreuse ($> 0,25\text{mg/l}$ après déferriseur). Venne (2009) a montré que ces éléments jouent comme des éléments protecteurs du biofilm.

De plus, les éleveurs n'ont pas tous réalisé le même protocole de nettoyage et désinfection. L'élevage A a suivi un protocole de nettoyage et désinfection complet (base, rinçage haute pression, acide, rinçage haute pression, désinfectant jusqu'à l'arrivée des poussins, rinçage). Les scores de biofilm et de qualité d'eau sont tous à 0 dès J0, contrairement aux élevages B et C. Il semblerait donc que la qualité du nettoyage et désinfection au vide sanitaire joue un rôle primordial dans la présence de biofilm en cours de lot, et de la qualité d'eau dès le démarrage de l'eau. De plus il est raisonnable de penser que si le biofilm est déjà présent à J0, il se développera d'autant plus facilement en cours de lot. Néanmoins, aux vues des premières observations réalisées, on peut en déduire que si la purge n'élimine pas complètement un biofilm déjà présent, elle ralentit au moins son développement, comme on peut le voir sur les figures 3, 4 et 5.

3.4. Effet de la fréquence des purges sur le développement du biofilm et la qualité d'eau

Sur les 4 lots tests suivis, 3 fréquences différentes ont pu être testées.

Figure 7 : Evolution des scores de colonisation du biofilm selon la fréquence de purges.



Une fréquence élevée (A) semble permettre une meilleure maîtrise du biofilm en comparaison à une fréquence faible (B) ou une fréquence moyenne (C). On observe les mêmes conclusions avec les scores de qualité d'eau. L'éleveur A qui réalise un protocole de nettoyage et désinfection recommandé et une fréquence de purge élevée en cours de lot affiche très peu de biofilm et une qualité d'eau satisfaisante dès J0.

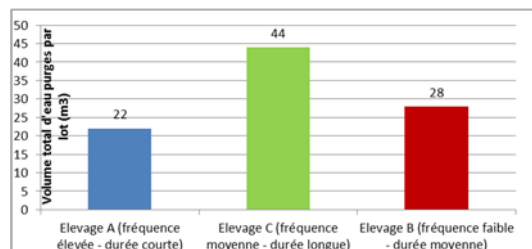
5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aviagen Turkeys, Guide d'élevage dinde de chair, BUT Nicholas, 24p
- Barton L.T., 1996, Poultry Science 75:854-856
- Bostvironnois C., 2003, Journées de la recherche Cunicoles
- Dennery G., Dezat E., Aubert C., 2012. L'eau en élevage avicole, une consommation maîtrisée.
- Guérin J.L., Balloy D., Villate D., 2011, Maladies des Volailles, Ed. France Agricole
- ITAVI, Chambre d'agriculture des Pays de la Loire, 2007, Eau de boisson en élevage avicole.
- ITAVI, Chambre d'agriculture des Pays de la Loire, 2010, Eau de boisson en élevage avicole
- MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SOLIDARITÉS, Arrêté du 11 janvier 2007, NOR : SANP0720201A.
- Venne D., 2009, Bull. Acad. Vét. France - Tome 162 - N°3

3.5. Volume d'eau utilisée

Les élevages suivis appliquant une durée de purge différente, les volumes d'eau purgés par lots sont donc différents (figure 8). Pour la comparaison, les volumes ont été ramenés à une durée d'élevage moyenne de 33 jours, pour un bâtiment de poulet standard de 1500m².

Figure 8 : Volume total d'eau utilisé par lot selon les pratiques de purges toutes choses égales par ailleurs.



Au lieu de la fréquence c'est surtout la durée qui va impacter les volumes d'eau utilisés, et donc le coût pour l'exploitant, alors que l'effet sur le biofilm des purges longues mais peu fréquentes ne semblent pas montrer d'intérêt dans ces premiers résultats.

4. CONCLUSION

La grille d'évaluation développée dans ce projet a été validée sur le terrain. Elle est désormais utilisable par tous. Dans 100% des cas, les élevages qui présentaient une qualité bactériologique de l'eau dégradée, présentaient également du biofilm dans les canalisations. La réalisation d'un bon nettoyage et désinfection au vide sanitaire semble être un pré-requis dans la maîtrise du biofilm. Aussi des purges courtes et régulières semble limiter le développement du biofilm et donc être une solution prometteuse pour réduire les intrants biocides ou médicamenteux sur les élevages, tout en restant un bon compromis économique.

D'autres essais, actuellement en cours, permettront d'évaluer si une fréquence de purges moindre associée à un bon protocole de nettoyage et désinfection pourrait être conseillée aux éleveurs. Merci aux éleveurs, à la région des Pays de la Loire et au plan EcoAntibio.