

EFFET D'UN PROBIOTIQUE SUR LES PERFORMANCES ET LA COCCIDIOSE DU POULET DE CHAIR MALE

A. Faouën¹, C. Tenier¹, G.F. Matthis², and D. Petri³

¹ Biomin France, 5 rue Jean Rostand 22440 Ploufragan

² Southern Poultry Research, 96 Roquemore Road, Athens, GE, USA

³ Biomin Holding GmbH, Erber Campus 1, 1313 Getzersdorf, Austria
anaelle.faouen@biomin.net

RÉSUMÉ

L'objectif de cet essai était d'évaluer et de comparer les effets d'un probiotique et de la salinomycine sur les performances et la coccidiose de 360 poulets mâles Cobb500 élevés jusqu'à 42 jours. Les oiseaux ont été aléatoirement répartis dans 4 groupes de 90 individus logés dans 3 cases et recevant un aliment standard du commerce. Le groupe témoin négatif (TN) n'a pas été contaminé par *Eimeria*. Le groupe témoin positif (TP) et les groupes expérimentaux ont été contaminés au jour 15 avec respectivement 75 000, 25 000 et 75 000 oocystes d'*Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* et *Eimeria tenella*. Le groupe SAL a reçu de la salinomycine sodique (Sacox®, Huevepharma Inc., Peachtree City, GA, USA) avec une dose de Salinomycine de 66 mg/kg d'aliment. Le groupe PS a reçu un probiotique multi-souches spécifique à la volaille (PoultryStar®, Biomin Holding GmbH, Getzersdorf, Austria) à 1 g/kg d'aliment. Aux jours 21 et 42, trois oiseaux par case ont été sélectionnés et euthanasiés afin de noter les lésions de coccidies au début et milieu de l'intestin et au niveau des caecums. La note 0 correspond à l'absence de lésion et 4 à la présence de lésions sévères. Au jour 21, la qualité de la litière est notée dans chaque case. La note 0 correspond à une litière sèche et friable et 5 indique une litière de mauvaise qualité. Dans chaque case, des échantillons fécaux ont été prélevés hebdomadairement afin d'évaluer le nombre d'oocystes. Les données ont été analysées par ANOVA en utilisant la GLM de SPSS (IBM SPSS 19, IBM Corp., Armonk, NY). Au jour 42, le gain de poids de TN était supérieur ($p < 0,05$) à celui de TP, les autres traitements étant intermédiaires. L'indice de consommation de TP était supérieur ($p < 0,05$) à ceux des autres traitements. Celui de PS était similaire à celui de SAL, mais seul SAL avait un indice de consommation statistiquement équivalent à TN. Les lésions au début et au milieu de l'intestin, la qualité de la litière et le nombre cumulé d'oocystes fécaux étaient plus faibles ($p < 0,05$) pour TN que pour TP, les autres traitements étant intermédiaires. Comme PS avait des performances similaires à SAL, il semble possible d'utiliser des probiotiques pour réduire l'incidence et la sévérité des coccidioses.

ABSTRACT

Effect of a probiotic on performance and coccidiosis in male broiler chickens.

The objective of the trial was to evaluate and compare the effects of PoultryStar® and Salinomycin as feed additives on performance and coccidiosis control in male broilers raised to 42 days of age. The study consisted of 360 day-old Cobb500 male broiler chicks randomly allocated to four groups, 90 birds per group, each housed in three replicate pens receiving standard commercial diet. Control groups were not supplemented with feed additive, with negative control (NC) not challenged with *Eimeria*, versus positive control (PC) challenged on day 15 with approximately 75.000, 25.000 and 75.000 of *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* and *Eimeria tenella* oocytes, respectively. Treatment groups supplemented with coccidiostat (SAL) and probiotic (PS) were equally challenged as PC, but received either Salinomycin sodium (Sacox®, Huevepharma Inc., Peachtree City, GA, USA) with an effective Salinomycin dose of 66 mg/kg of feed, or a multi-species host specific probiotic (PoultryStar®, Biomin Holding GmbH, Getzersdorf, Austria) at 1 g/kg of feed, respectively. On days 21 and 42, three birds per pen were selected, euthanized and examined for the evaluation of coccidiosis lesion scores in upper intestine (IT), central IT and ceca between 1 and 4, with 0 being no visible lesions and 4 indicating severe lesions visible. On day 21, pen litter scores were assessed, with 0 being dry, friable litter and 5 indicating poorest litter quality. Oocyst shedding was assessed in weekly collected fecal samples per pen. Data were analyzed by ANOVA using the GLM procedure of SPSS (IBM SPSS 19, IBM Corp., Armonk, NY). Day 42 body weight gain was highest ($P < 0,05$) in NC compared with PC, other treatments being intermediate. Feed conversion was least efficient ($P < 0,05$) in PC treatment comparing with all other treatments, with PS birds performing similar to SAL, but only SAL performing equal to NC. In upper and central IT as well as litter score and cumulative fecal oocyst count, NC was significantly lower ($P < 0,05$) compared to PC, with other treatments being intermediate. As PS supplemented birds performed similar to SAL supplemented animals, it appears possible to utilize probiotics to reduce incidence and severity of coccidiosis.

INTRODUCTION

La coccidiose est une maladie entérique causée par le développement et la reproduction de plusieurs espèces de protozoaires *Eimeria*. Le poulet est l'hôte de 7 espèces dont les trois principales sont *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* et *Eimeria tenella* (Dalloul & Ritzi, 2016). Chaque espèce a la capacité d'infecter une partie différente de l'intestin. En effet, *Eimeria acervulina* se développe principalement dans le duodénum, *Eimeria maxima* dans la partie médiane de l'intestin et *Eimeria tenella* dans les caecums (Chapman, 2014). Ce parasite se développe dans l'intestin et impacte négativement l'intégrité de l'intestin. Chez le poulet, *Eimeria* dégrade l'intestin augmentant sa sensibilité à d'autres maladies telles que les entérites non spécifiques ou nécrotiques et réduit la capacité de cet organe à absorber les nutriments (Gino Lorenzoni, 2010). Actuellement, les méthodes de lutte utilisées sont principalement l'utilisation d'anticoccidiens et la vaccination anticoccidienne des lots. Le coût des traitements et les effets de la maladie sur la santé des animaux coûtent chaque année 3 milliard \$US à l'industrie mondiale avicole (Dalloul and Lillehoj, 2006). Malgré l'efficacité avérée des anticoccidiens, la mise en évidence d'une résistance des espèces *Eimeria* aux anticoccidiens (Chapman, 1997) et les discussions actuelles au niveau européen concernant la disparition éventuelle des additifs coccidiostatiques obligent la filière à se tourner vers la vaccination ou vers des solutions alternatives.

L'objectif de cette étude est d'évaluer et de comparer les effets d'un probiotique et d'un anticoccidien sur les performances et la coccidiose de poulets mâles élevés jusqu'à 42 jours.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et traitements

Un total de 360 poulets mâles Cobb500, d'un jour d'âge, ont été aléatoirement répartis dans 4 groupes de 90 individus logés dans 3 cases de 30 sujets. Tous les animaux ont reçu un aliment standard du commerce et de l'eau *ad libitum*. Le groupe témoin négatif (TN) a reçu l'aliment sans additif, sans traitement et sans contamination. Le groupe témoin positif (TP) a été contaminé avec un mélange de plusieurs espèces d'*Eimeria* et a reçu l'aliment sans additif ni traitement. Le groupe salinomycine (SAL) a été contaminé et a reçu 66 mg de salinomycine/kg d'aliment. Enfin le groupe probiotique (PS) a été contaminé et a reçu 1 kg/t de probiotique.

Au jour 15, tous les animaux à l'exception de ceux du groupe TN ont été contaminés avec respectivement environ 75 000, 25 000 et 75 000 oocystes d'*Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* et

Eimeria tenella mélangés à l'aliment. Toutes les souches utilisées dans cet essai ont été isolées d'exploitations commerciales américaines en 2012. Pour chaque espèce, la dose a été sélectionnée afin d'induire une coccidiose modérée. Les oocystes ont été regroupés pour former un volume total de 550 ml. Chaque inoculum de 30 ml a été introduit sous forme liquide à l'aliment des cases contaminées. Ainsi, l'aliment contenant les oocystes a été immédiatement consommé après l'application, évitant la dessiccation et donc l'inactivation des oocystes.

Le probiotique utilisé est un probiotique multi-souches, spécifique à la volaille (PoultryStar – BIOMIN GmbH, Herzogenburg, Autriche). Il est constitué de $5,00 \times 10^{11}$ UFC/kg de souches de *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus salivarius* et d'*Enterococcus faecium*.

1.2. Paramètres mesurés et analyses statistiques

Tous les oiseaux sont restés sous observation pendant 42 jours au cours desquels ils ont été inspectés deux fois par jour. Au cours de ces inspections, l'état sanitaire général des animaux a été vérifié et enregistré. Le nombre d'oiseaux retrouvés morts au cours de l'étude a été noté quotidiennement. Les oiseaux ont été autopsiés et n'ont pas été remplacés. Le numéro de la case, la date de la mort, le sexe, le poids et le diagnostic ont été enregistrés. L'ingestion, le poids vif et l'indice de consommation (IC) ont été déterminés par case toutes les semaines. Le poids des animaux a été mesuré par case au jour 0 et hebdomadairement.

Au 21^{ème} jour, trois animaux de chaque case ont été sélectionnés de manière aléatoire et euthanasiés. La présence et la sévérité des lésions de coccidioses ont été évaluées dans la région haute, médiane et caecale de l'intestin. Pour cela, la grille de notation de Johnson and Reid (1970) allant de 0 à 4 a été utilisée avec 0 correspondant à un état normal et 4 indiquant une sévère infection. Les animaux retrouvés morts n'ont pas été pris en compte dans le score de lésions.

Au 21^{ème} jour, la qualité de la litière a été évaluée à l'aide d'une grille de notation allant de 0 à 5 avec 0 correspondant à une litière sèche et friable dans toute la case; 1 à une litière majoritairement sèche avec quelques croûtes autour des pipettes et des mangeoires; 2 à une litière globalement acceptable mais avec certaines zones de copeaux humides; 3 à une litière de mauvaise qualité avec une proportion importante de zones humides ou pâteuses; 4 à une litière de qualité non acceptable – litière humide ou pâteuse avec peu de zones sèches restantes et 5 correspondant à une litière humide et détrempée sans aucune zone sèche restante.

Aux jours 21, 28, 35 et 42, dix échantillons de fèces frais ont été prélevés dans chaque case afin d'évaluer la quantité d'oocystes dans les fientes. Il n'y a pas eu de distinction faite entre les fientes intestinales et les vidanges caecales. Les échantillons de chaque case ont été rassemblés pour former un pool qui a ensuite été placé dans un sac plastique hermétique. Les échantillons ont été homogénéisés et stockés à 4°C jusqu'au comptage. Après dilution, le nombre d'oocystes par gramme de fèces a été évalué grâce à un microscope avec une cellule de numération MacMaster.

Les données à distribution normale ont été analysées par ANOVA en utilisant la procédure GLM de SPSS. La case est l'unité expérimentale pour l'ingestion et l'IC, tandis que pour le poids vif chaque animal est l'unité expérimentale. Les moyennes des traitements montrant des différences significatives à l'ANOVA ont été comparées grâce à la méthode de Tukey. Pour les données n'ayant pas de distribution normalisée ou si les valeurs n'étaient pas continues, un test non paramétrique tel que Kruskal Wallis a été utilisé.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Résultats

Les résultats obtenus (Tableau 1) montrent que le poids vif à J42 du groupe TP est significativement inférieur au poids vif du groupe TN ($P \leq 0,05$). Les poids vifs des groupes Sal et PS sont similaires et ne diffèrent pas significativement du poids vif du groupe TP ni du groupe TN ($P \geq 0,05$). Les indices de consommation des groupes Sal et PS sont similaires ($P \geq 0,05$) et sont tous deux significativement inférieurs à l'IC du groupe TP ($P \geq 0,05$).

La mortalité ne diffère pas significativement entre tous les groupes expérimentaux ($P \geq 0,05$). Une légère augmentation de la mortalité a été observée deux semaines après la contamination et la dernière semaine de l'étude. Dans certains cas, la mortalité était associée à la coccidiose mais pas uniquement ; en effet dans d'autres cas elle pouvait être associée à la présence de *Clostridia*.

Sur le Tableau 2, on observe que la concentration cumulative et la concentration à J21 en oocystes du groupe TP sont significativement supérieures aux concentrations du groupe TN ($P \leq 0,05$). Ces concentrations sont équivalentes entre les groupes SAL et PS et ne diffèrent pas significativement des groupes TP et TN ($P \geq 0,05$). Au jour 28, la concentration du groupe SAL est significativement inférieure à celle du TP ($P \geq 0,05$).

Aux jours 35 et 42, les concentrations entre tous les groupes sont similaires ($P \geq 0,05$).

Les notes des lésions intestinales dans la région haute et la région médiane de l'intestin du groupe TN sont significativement inférieures aux notes du groupe TP ($P \leq 0,05$). Celles des groupes TP, SAL et PS ne sont pas significativement différentes ($P \geq 0,05$). De même, les scores des groupes TN, SAL et PS ne diffèrent pas significativement ($P \geq 0,05$). Au niveau des caecums, les notes de lésions sont en moyenne de 2,22 pour le groupe TP et PS et de respectivement 0,22 et 0,89 dans le groupe TN et SAL. Cependant, les différences observées entre les moyennes ne sont pas significatives ($P \geq 0,05$).

Sur la Figure 1, on observe que la note de litière à J21 du groupe TP est significativement supérieure à la note du groupe TN ($P \leq 0,05$). Entre les groupes TP, PS et SAL et entre les groupes TN, PS et SAL, les notes ne sont pas significativement différentes ($P \geq 0,05$).

2.2. Discussion

L'IC des oiseaux traités avec le probiotique était significativement plus faible que celui des animaux contaminés qui n'ont pas reçu de probiotique ou de salinomycine mais équivalent à celui des animaux contaminés recevant de la salinomycine. De même, la quantité globale d'oocystes dans les fèces des animaux traités avec le probiotique est similaire à celle des animaux traités avec la salinomycine. De plus, les scores de lésions intestinales au jour 21 des animaux contaminés recevant le probiotique ne sont pas significativement différents de ceux des animaux contaminés recevant la salinomycine notamment dans la partie supérieure de l'intestin et au milieu de l'intestin.

Concernant les lésions intestinales, seulement trois oiseaux par case ont été analysés ce qui explique l'importante variation individuelle entre les animaux. Le protocole expérimental de cette étude n'a pas permis d'observer des différences significatives au niveau des caecums. Une étude avec davantage de répliques permettrait de vérifier si les lésions intestinales au niveau des caecums sont statistiquement différentes entre les groupes expérimentaux.

Une des limites de cette étude est la présence d'oocystes dans les fèces du témoin négatif. Toutes les mesures possibles ont été prises en compte pour éviter la contamination et pour maintenir le groupe témoin négatif indemne de coccidies. Cependant, ceci fut difficile à cause de la nature omniprésente des souches d'*Eimeria*, ce qui confirme l'importance d'utiliser une méthode efficace de contrôle de la maladie. De plus, la méthode de contamination utilisée visant à infecter les animaux au travers de

l'aliment est une méthode qui demande moins de temps de travail et qui est moins stressante pour les animaux qu'une infection par gavage oral. Cependant, avec cette méthode, il est moins probable que tous les animaux reçoivent la même quantité d'oocystes. Ceci peut donc expliquer la forte variation d'excrétion d'oocystes observée entre les cases. Malgré tout la différence évidente entre les groupes contaminés et non contaminés confirme la validité du modèle.

Cette étude confirme les résultats obtenus au cours d'études précédentes. Par exemple, Giannenas et al. (2014) ont comparé l'effet d'un probiotique appliqué dans l'eau ou dans l'aliment et l'effet du lasalocide sur les performances, la morphologie de l'intestin et la microflore de poulets infectés par 3 souches d'*Eimeria* : *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* et *Eimeria tenella*. Le probiotique utilisé était le même que celui utilisé dans notre étude. L'évaluation des lésions intestinales, du nombre d'oocystes et de la taille des villosités a mis en évidence la capacité du probiotique à améliorer les performances et la santé de l'intestin. Les améliorations observées sont quasiment similaires aux améliorations des animaux recevant l'anticoccidien.

Ces études permettent de mettre en avant la possibilité de contrôler la coccidiose avec des additifs alimentaires ayant des modes d'action différents des anticoccidiens. En effet, on sait que l'un des modes d'action des probiotiques est le maintien d'une

microflore intestinale normale par exclusion compétitive (Kabir, 2009). On peut donc émettre l'hypothèse que le probiotique aurait un effet sur la coccidiose via les bactéries qui se fixent sur les sites de liaison des cellules épithéliales. En effet, *Eimeria* est un parasite intracellulaire, il a besoin de la cellule pour se reproduire. Ainsi le probiotique en occupant des récepteurs communs pourrait empêcher l'infiltration et la réplication du parasite. Un autre mode d'action des probiotiques est leur capacité à stimuler le système immunitaire (Dalloul et al., 2003a,b, 2005) ce qui améliore la réponse immunitaire des oiseaux contre *Eimeria* conduisant à un effet protecteur contre la coccidiose.

CONCLUSION

Pour conclure, les résultats de cette étude montrent que les poulets recevant un probiotique multi-souches spécifiques à la volaille dans leur aliment ont des performances similaires aux animaux recevant la salinomycine en terme d'IC et de nombre d'oocystes. Les probiotiques pourraient donc être utilisés comme une approche complémentaire dans les programmes de lutte contre les coccidies pour réduire l'incidence et la sévérité de la coccidiose et pour réduire le développement de la résistance aux coccidiostatiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chapman, H. D., 1997. Avian Pathol., 26(2), 221-244.
- Chapman, H. D., 2014. Poult. Sci., 93(3), 501-511.
- Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Shellem, T. A., & Doerr, J. A., 2003a. Poult. Sci., 82(1), 62-66.
- Dalloul, R.A., Lillehoj, H.S., Shellem, T.A. and Doerr, J.A., 2003b. Avian diseases, 47(4), pp.1313-1320.
- Dalloul, R.A., Lillehoj, H.S., Tamim, N.M., Shellem, T.A. and Doerr, J.A., 2005. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 28(5), pp.351-361.
- Dalloul, R. A., & Lillehoj, H. S., 2006. Expert Rev. Vaccines, 5(1), 143-163.
- Dalloul R.A., Ritzi M.M., 2016. Probiotics: a modern solution to coccidiosis and necrotic enteritis. In: World nutrition forum: driving the protein economy, Vienna, October 12-15, 2016. E.M. Binder (Ed.). BIOMIN Edition.
- Giannenas, I., Tsalie, E., Triantafyllou, E., Hessenberger, S., Teichmann, K., Mohnl, M., & Tontis, D., 2014. Avian Pathol., 43(3), 209-216.
- Johnson, J., & Reid, W. M., 1970. Exp. Parasitol. 28(1), 30-36.
- Kabir, S. M., 2009. Int. J. Mol. Sci., 10(8), 3531-3546.
- Lorenzoni G., 2010. In: Poultry Diseases Influenced by Gastrointestinal Health: Traditional Treatments and Innovative Solutions, Nottingham University Press, pp62.

Tableau 1. Performances zootechniques globales

Groupes	TN	TP	Sal	PS
Poids vif à J42	2,31 ^a	1,91 ^b	2,19 ^{ab}	2,10 ^{ab}
IC à J42	1,77 ^c	2,10 ^a	1,83 ^{bc}	1,86 ^b
Mortalité (oiseaux/groupe)	0 ^a	7 ^a	9 ^a	9 ^a

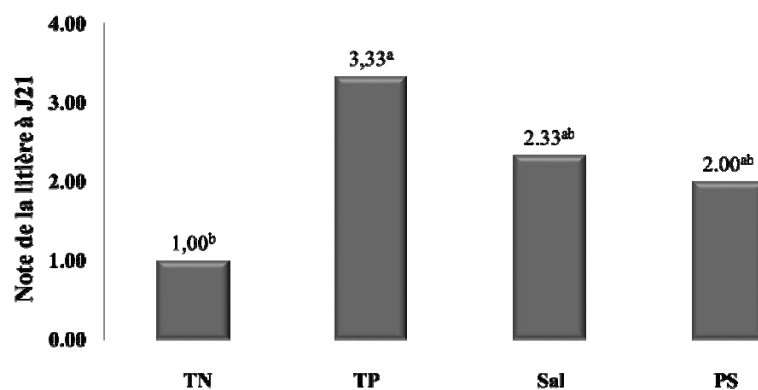
^{a,b,c} Des exposants différents sur une même ligne indiquent que les moyennes sont significativement différentes (P≤0,003)

Tableau 2. Nombre d'oocystes par gramme de matière fécal et notes de lésions à J21

Groupes	TN	TP	Sal	PS
Nombre d'oocystes				
J21	1 340±1 674 ^b	153 832±38 603 ^a	30 150±3 481 ^{ab}	32 160±13 381 ^{ab}
J28	9 380±5 092 ^{ab}	203 680±139 610 ^a	3 082±879 ^b	15 276±5 428 ^{ab}
J35	6 164±3 091 ^a	1 608±1 608 ^a	1 608±1 608 ^a	0±0 ^a
J42	8 844±4 254 ^a	2 814±2 214 ^a	5 896±4 294 ^a	402±232 ^a
Cumulatif	25 728±6 034 ^b	361 934±164 358 ^a	40 736±1 360 ^{ab}	47 838±15 079 ^{ab}
Note de lésion à J21				
Partie supérieure de l'intestin	0 ^b	2,11 ^a	0,78 ^{ab}	1,33 ^{ab}
Milieu de l'intestin	0 ^b	2,11 ^a	1,67 ^{ab}	1,56 ^{ab}
Caecum	0,22 ^a	2,22 ^a	0,89 ^a	2,22 ^a

^{a,b} Des exposants différents sur une même ligne indiquent que les moyennes sont significativement différentes (P≤0,05)

Figure 1. Notation de la litière à J21 à l'aide d'une grille allant de 0 à 5



^{a,b} Des exposants différents sur une même ligne indiquent que les moyennes sont significativement différentes (P≤0,05)