

LA COLIBACILLOSE DU POULET DE CHAIR : RESULTATS INTERMEDIAIRES D'UNE ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DANS 40 ELEVAGES

**Souillard Rozenn¹, Puterflam Julie², Balaine Loic¹, Galliot Pascal², Kempf Isabelle³,
Schouler Catherine⁴, Le Bouquin Sophie¹.**

¹ANSES, Unité Epidémiologie Santé et Bien Etre, 22440 Ploufragan

²ITAVI, 22440 Ploufragan

³ANSES, Unité Mycoplasmodologie Bactériologie et Antibiorésistance, 22440 Ploufragan

⁴ISP, INRA, Université de Tours, UMR 1282, 37380 Nouzilly

rozenn.souillard@anses.fr

RÉSUMÉ

La colibacillose, provoquée par certaines souches d'*Escherichia coli*, un hôte commun du tube digestif des volailles, est une maladie multifactorielle qui peut se déclencher principalement suite à des conditions d'élevage défavorables. Les objectifs de l'étude COLISEE visent à prévenir la maladie par l'identification des facteurs déclenchants en élevage et à développer des outils de caractérisation des souches d'*E. coli* virulentes. Pour cela, une étude est conduite par l'UMT Sanivol dans 80 élevages de poulets de chair. Ce travail présente les résultats intermédiaires des données collectées dans les 40 premiers élevages. Lors de la première visite, avant l'arrivée des poussins, des chiffonnets sont réalisés dans le bâtiment puis lors de leur mise en place, un chiffonnet de fonds de boîte et dix poussins sont prélevés. Ces prélèvements sont analysés en bactériologie pour recherche d'*E. coli*. Une notation de la qualité des poussins, de leur comportement et des mesures d'ambiance sont également réalisées. Lors de la seconde visite à trois semaines d'âge, des mesures d'ambiance et des indicateurs de bien-être sont relevés. En cas de suspicion d'une colibacillose par l'éleveur, des poulets sont examinés au laboratoire pour diagnostic bactériologique. Les résultats des 40 premiers lots montrent qu'*E. coli* a été identifié dans 20 bâtiments avant l'arrivée des poussins (chiffonnets de litière dans 11 bâtiments, de parois dans 9 bâtiments, de soubassements dans 5 bâtiments, des entrées d'air et du matériel dans 3 bâtiments). *E. coli* a également été identifié à partir des chiffonnets de fonds de boîtes dans 37 lots et des poussins dans 29 lots (sur vitellus et/ou foie). Des colibacilloses cliniques ont été signalées dans 15 élevages. Ces résultats intermédiaires montrent une détection d'*E. coli* dans la moitié des bâtiments avant l'arrivée des poussins et un portage d'*E. coli* par les poussins à leur arrivée pour la plupart des lots. L'étude des facteurs déclenchants en élevage et de la virulence des souches d'*E. coli* permettra de fournir des moyens d'action pour une meilleure maîtrise de la maladie.

ABSTRACT

Colibacillosis in broilers: Intermediate results of an epidemiological study in 40 farms.

Colibacillosis, caused by some strains of *Escherichia coli*, a common host of the intestinal tract of poultry, is a multifactorial disease often occurring under deficient rearing conditions. The objectives of the COLISEE study are to prevent the disease by identifying field conditions associated with colibacillosis and by developing tools to characterize *E. coli* virulent strains. The UMT Sanivol conducts a study in 80 broiler farms. This article presents the intermediate results of the data collected in the first 40 farms. During the first visit, before the arrival of the chicks, swabs were collected in the houses. At the chicks' arrival, a swab on delivery box and ten chicks were sampled. These samples were analyzed for *E. coli* isolation. A notation of chick quality and behavior, and of ambient parameters were also collected. During the second visit at three weeks of age, ambient parameters and welfare indicators were noted. In case of colibacillosis suspicion, chickens were examined in laboratory for bacteriological diagnosis. The results of the first 40 flocks showed that *E. coli* was identified in 20 houses prior to the chicks' arrival (swab on litter in 11 houses, on walls in 9 houses, on wall subbases in 5 houses, on air inlet and equipment in 3 houses). *E. coli* was also identified from swabbing delivery boxes in 37 flocks and from chicks in 29 flocks (yolk and/or liver). Clinical colibacillosis cases were reported in 15 farms. These first results showed a detection of *E. coli* in half of the houses prior to the arrival of the chicks and a carriage of *E. coli* by the chicks at arrival in most of the flocks. The study of the rearing conditions and of the virulence of the *E. coli* strains will provide means of action for a better control of the disease.

INTRODUCTION

La colibacillose aviaire est l'infection bactérienne la plus fréquente en production avicole, entraînant de la mortalité, l'utilisation d'antibiotiques et des pertes économiques importantes. La maladie est provoquée par la bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*) un hôte commun du tube digestif des volailles. La colibacillose est une maladie multifactorielle qui peut se déclencher suite à des facteurs d'élevage défavorables, un état d'immunodépression des volailles ou une virulence particulière des souches d'*E. coli* (Guabiraba et Schouler, 2015). En effet, la bactérie *E. coli* présente une grande diversité de souches, dont la plupart ne sont pas pathogènes. Cependant, des souches dites APEC (Avian Pathogenic *E. coli*) peuvent être responsables de manifestations cliniques dans les élevages, entraînant de la mortalité associée notamment à des omphalites, des infections respiratoires ou des boiteries. 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 Mycoplasmatologie 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 l'INRA. Ce projet vise à proposer des moyens de prévention de la colibacillose aviaire par l'identification des facteurs déclenchants en élevage au cours d'une étude épidémiologique dans 80 élevages de poulets, par une meilleure compréhension du contexte « psycho-social » dans lequel l'éleveur gère le risque sanitaire et par le développement de vaccins expérimentaux. Ce projet a également pour objectif de développer des technologies d'analyses innovantes par spectrométrie de masse MALDI-TOF et par PCR haut débit, en caractérisant la virulence des souches d'*E. coli* collectées lors de l'étude épidémiologique. Ce travail présente les résultats intermédiaires descriptifs des données pour les 40 premiers élevages enquêtés.

1. MATERIELS ET METHODES

40 lots de poulets de chair standard de 4 organisations de production, mis en place en Bretagne et Pays de Loire entre mai 2017 et mars 2018, sont inclus dans l'étude intermédiaire (choix aléatoire). Pour chaque lot de poulets, 2 visites sont réalisées aux périodes à risque de déclenchement de la colibacillose : au démarrage des poussins et à 3 semaines d'âge. Par ailleurs, en cas de suspicion d'une colibacillose en cours d'élevage, un diagnostic bactériologique est réalisé pour recherche d'*E. coli*.

1.1. Visite des élevages à l'arrivée des poussins

Environ une heure avant l'arrivée des poussins, 5 chiffonnets sont réalisés 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 boîtes sont prélevés. Ces échantillons (chiffonnets, eau, foie et vitellus des poussins) sont analysés pour recherche d'*E. coli* par isolement sur gélose lactosée, identification et sérotypage des souches O1, O2 et O78, conservées ensuite au surgélateur.

Par ailleurs, au déchargement des poussins dans le bâtiment, une notation individuelle de 100 poussins est réalisée selon une grille s'inspirant de la méthode Tona K. et al. (2003). Il est notamment observé l'état du duvet, l'état de cicatrisation de l'ombilic, la présence d'une membrane au niveau de l'ombilic et l'état d'hydratation des pattes. Chacun des 100 poussins est également pesé. Leur comportement à la mise en place dans le bâtiment est observé : il est relevé si les animaux s'alimentent rapidement et ont un accès correct à l'eau. Enfin, des mesures d'ambiance (dioxyde de carbone, température et hygrométrie) sont réalisées dans chaque quart du bâtiment à hauteur des animaux (sonde KIMO®). Lors de cette visite, un questionnaire épidémiologique est rempli avec l'éleveur (descriptif de l'exploitation, du bâtiment et des conditions de démarrage du lot).

1.2. Visite des élevages à 3 semaines d'âge

Comme pour la première visite, des mesures d'ambiance sont relevées à 3 semaines d'âge pour le dioxyde de carbone, la température et l'hygrométrie, ainsi qu'une mesure de NH₃ et 2 mesures de poussières totales. Une notation de 30 poulets permet également d'évaluer les indicateurs de bien-être (Welfare Quality, 2009) : la propreté du plumage (score 0 : plumage propre, score 1 : dégradation minime, scores 2 et 3 : plumage sale et très sale) et les pododermatites (score 0 : absence de lésion, score 1 : lésions minimales et scores 2 à 4 : lésions avérées avec score 2 : légères, 3 : sévères et 4 : très sévères). Lors de cette seconde visite, le questionnaire épidémiologique est complété (problèmes sanitaires, traitements préventifs et curatifs et mortalité du lot).

1.3. Suspicion d'une colibacillose en cours d'élevage

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).

Au laboratoire, en cas de suspicion d'une colibacillose précoce, si des lésions septicémiques sur au moins 4 poussins et sur au moins un des organes (vitellus, foie, rate, cœur, articulation) par poussin sont identifiées, alors les organes lésés sont analysés pour recherche d'*E. coli* par isolement sur gélose lactosée, identification et sérotypage des souches O1, O2 et O78. En cas de suspicion d'une colibacillose tardive, si des lésions septicémiques sur au moins 4 poulets et sur au moins un des organes (foie, rate, cœur, articulations, sacs aériens) par poulet sont identifiées, alors ces organes lésés sont analysés de la même manière que pour les colibacilloses précoces. Les souches d'*E. coli* sont ensuite conservées au surgélateur.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Préparation du bâtiment et détection d'*E. coli* avant l'arrivée des poussins

Les 40 lots de poulets ont été élevés dans des bâtiments d'une surface moyenne de 1200 m², avec pour la plupart, un sol en terre battue (28/40 bâtiments). Suite au départ du lot précédent, tous les bâtiments ont été lavés (détergent dans 17 élevages). Une désinfection a ensuite été réalisée dans 21 bâtiments et 2 désinfections dans 18 bâtiments.

La majorité des bâtiments est équipée d'une ventilation dynamique (29/40 bâtiments). Un préchauffage a été réalisé dans tous les bâtiments, pendant en moyenne 49h avant l'arrivée des poussins (20h à 120 h) à une température moyenne de 32,2 °C (28°C à 35°C). La préparation du bâtiment est essentielle avant l'arrivée des poussins, il est généralement conseillé de chauffer au moins 48 heures avant l'arrivée des animaux (Munsch, 2015). Le circuit d'abreuvement a été réalimenté en eau, en moyenne 3,5 heures avant l'arrivée des poussins (0h à 28 h) et l'aliment distribué sur les papiers et dans les assiettes 21h en moyenne (1h à 72 h) avant l'arrivée des poussins.

Avant la livraison des animaux, *E. coli* a été identifié dans 20 bâtiments/40, à partir des chiffonnettes de litière (11 bâtiments), de parois (9 bâtiments), de soubassements (5 bâtiments), des entrées d'air (3 bâtiments) et du matériel (3 bâtiments) (Figure 1). *E. coli* a également été identifié pour 2 élevages dans l'eau en bout de ligne. A partir de ces prélèvements d'environnement, 71 souches d'*E. coli* ont été conservées (93% de sérotypes non déterminés, 5,6% d'O2 et 1,4% d'O1). Dans l'environnement, *E. coli* peut être retrouvé dans les matières fécales, la litière et la poussière. La poussière des bâtiments de volailles peut en effet contenir de 10⁵ à 10⁶ *E. coli*/gramme (Nolan et al, 2013). Différentes sources d'introduction dans les élevages ont également déjà été identifiées, comme les rongeurs ou les ténébrions (Goodwin et al, 1996).

2.2. Conditions de démarrage et détection d'*E. coli* à la livraison des poussins

La durée du transport des poussins entre le couvoir et l'élevage était de 2,8h en moyenne (0,75h à 7h). Pour le déchargement des caisses au bâtiment, le personnel de l'élevage a été aidé par le chauffeur dans 6 élevages et par des intervenants extérieurs (famille, voisins ou amis) pour 31 d'entre eux.

Lors de la livraison des poussins, *E. coli* a été identifié dans 37 lots à partir de la chiffonnette sur les fonds de boîte (Figure 1) et dans 29 lots à partir des poussins (plus de la moitié des poussins positifs/10 dans 14 lots) (Figure 2). A partir des chiffonnettes sur fonds de boîtes, 94 souches ont été conservées (91,5% de sérotypes indéterminés et 8,5% d'O2). Parmi l'ensemble des poussins porteurs (n=157), *E. coli* a été le plus souvent isolé du vitellus pour 44,5% des poussins, des foies et vitellus pour 33,3%, et uniquement du foie pour 22,2% d'entre eux. A partir de ces organes sur poussins, 206 souches ont ainsi été conservées (67% de sérotypes indéterminés, 25,2% d'O2, 7,3% d'O1 et 0,5% d'O78). *E. Coli* est un germe qui peut se transmettre par voie verticale : la surface des œufs peut être contaminée par *E. coli*, à l'éclosion le poussin peut ainsi se retrouver dans un aérosol contaminé par des souches d'*E. coli* pathogènes ou non (Giovanardi et al., 2005).

Le poids des poussins à l'arrivée, évalué sur 100 individus était de 40,6g en moyenne (33,6 à 47,8g). Peu d'anomalies sur les critères de qualité physique des poussins ont été relevées avec en moyenne 73,5% de poussins sans anomalie. Les défauts les plus observés étaient la présence d'une membrane sur l'ombilic (dans 32 lots pour en moyenne 5,8% des poussins, de 1% à 19 %) et des ombilics non cicatrisés (dans les 40 lots pour en moyenne 11% des poussins, de 1% à 34 %). La cicatrisation de l'ombilic, une zone vulnérable aux infections bactériennes, est à contrôler au démarrage des poussins (Maatjens et al, 2016).

L'observation du comportement des poussins à la mise en place montre que pour la plupart des lots (27/40), plus de 75% des poussins mangent 1h après leur mise en place et l'accès aux points d'eau est satisfaisant pour 29/40 lots. Il a été montré que le délai d'accès à l'eau et à l'aliment avait un impact sur la qualité du démarrage et les performances des animaux (Bergoug et al., 2013).

La concentration moyenne en CO₂ à la mise en place des poussins, était de 2841ppm (985 à 6509ppm). La température dans les bâtiments était de 31,1 °C en moyenne (28,1 à 33,9°C) et l'hygrométrie de 45,9% (31,8 à 59,5%). Le poussin est incapable de réguler sa température qui varie fortement selon son environnement. L'ambiance doit être stable avec une température d'environ 32°C (Munsch, 2015). L'air doit être renouvelé pour éliminer les gaz toxiques avec une teneur en CO₂ inférieure à 3 000 ppm (Arrêté 28 juin 2010).

2.3. Les cas de colibacilloses et les conditions d'élevages en fin de lot

Des colibacilloses ont été signalées dans 15 élevages: 12 colibacilloses précoces avant 10 jours d'âge et 4 colibacilloses tardives (Tableau 1). Pour les colibacilloses précoces, de la mortalité a été observée en moyenne pendant 5 jours (taux de mortalité moyen 1.7%). Les signes de la maladie ont été observés pendant une plus longue période lors des colibacilloses tardives, en moyenne pendant 12 jours (taux de mortalité 1.5%) et le plus souvent avec des signes de boiteries. *E. coli* a été isolé essentiellement à partir des vitellus (inflammation du sac vitellin dans 11/12 lots) lors des colibacilloses précoces et à partir des foies en cas de colibacillrose tardive (inflammation et hypertrophie du foie dans les 4 lots). Des lésions de l'articulation tibio-tarsienne ont également été observées pour 2 lots. A partir de ces prélèvements de colibacilloses, 156 souches d'*E. coli* ont été conservées (82.7% sérotypes indéterminés, 6.4% d'O2 et 10.9% d'O78). Les manifestations cliniques et la mortalité liée à la colibacillrose sont très variables, les jeunes oiseaux sont souvent atteints par une maladie plus sévère. La colibacillrose peut prendre plusieurs formes : des infections localisées, comme les infections du sac vitellin (avec des omphalites, une inflammation concomitante de l'ombilic) ou des formes systémiques avec des lésions inflammatoires diverses comme des péricardites ou des périhépatites fibrineuses. Les volailles peuvent également développer des lésions chroniques, comme des ostéomyélites ou des arthrites (Nolan et al., 2013). Lors de la seconde visite, les indicateurs de bien-être ont été relevés sur 30 poulets. Des pododermatites (score ≥ 2) ont été observées chez 56,5% des poulets (score 0 : 19,8%, score 1 : 23,6%, score 2 : 32,8%, score 3 : 20,4%, score 4 : 3,3%) à 3 semaines d'âge (un taux de 91,1% avait été observé à l'abattoir lors d'une étude menée en 2009 (Allain et al., 2009)). Très peu de plumages sales ont été observés : score ≤ 1 pour la quasi-totalité des poulets (98,3%). Les pododermatites sont de bons indicateurs de la qualité de la litière et de l'air (Nolan et al., 2013 ; Allain et al., 2009) et une litière humide est favorable au développement d'*E.coli* (Rezende et al., 2001). Les mesures d'ambiance relevées à 3 semaines d'âge indiquent une concentration moyenne en CO2 de 2589 ppm (798 à 5346ppm), une température de 26°C

en moyenne (21 à 33,5°C) et une hygrométrie de 67,9% (39,5 à 78,3%). Le taux moyen de NH3 était de 12,6 ppm (0 à 30 ppm) et de poussière de 3,9 mg/m3 (1,14 à 10,36 mg/m3). L'ammoniac et la poussière peuvent entraîner une irritation de l'appareil respiratoire favorable au développement d'*E. coli*. (Jones et al, 2005). De nombreux facteurs de risque de la colibacillrose aviaire relatifs à l'ambiance, à la qualité de l'eau ou aux conditions d'élevage ont été décrits (Vandekerckhove et al, 2004).

CONCLUSION

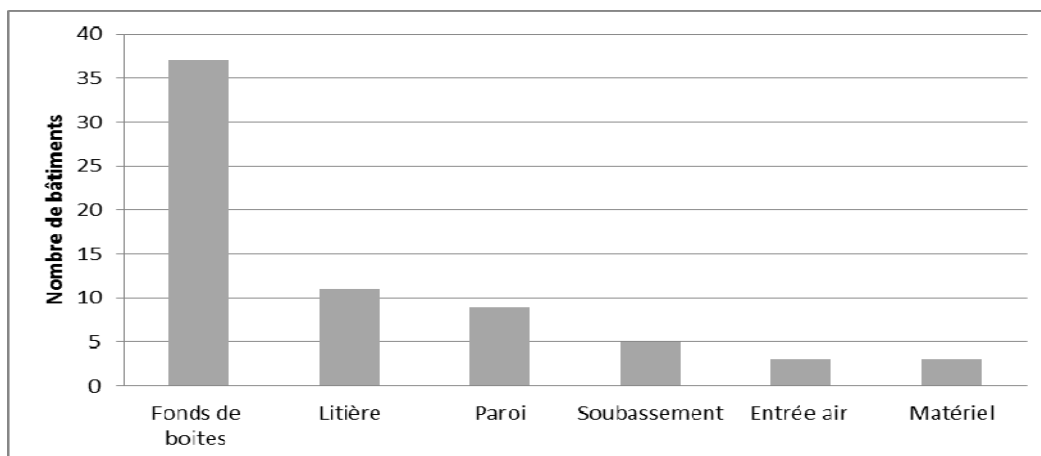
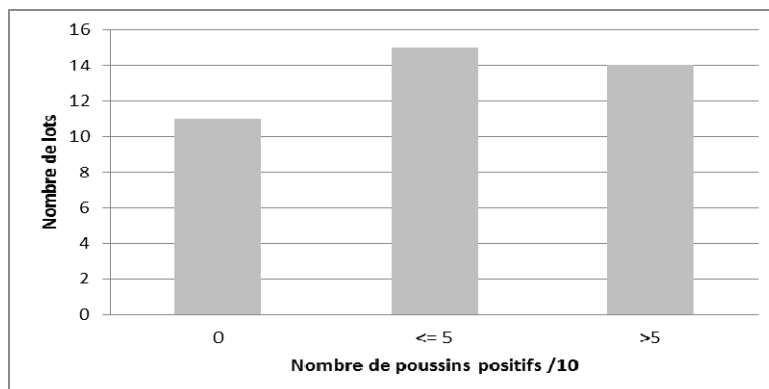
Les résultats intermédiaires de l'étude épidémiologique menée dans les 40 premiers lots de poulets de chair montrent une présence d'*E. coli* dans la moitié des bâtiments avant l'arrivée des poussins (notamment sur la litière dans 11 bâtiments/40) et un portage d'*E. coli* par les poussins à l'arrivée dans l'élevage pour la plupart des lots (37/40 pour les fonds de boîte et 29/40 pour les organes). Cependant, *E. coli* est un hôte commun du tube digestif des volailles et la plupart des souches ne sont pas pathogènes, sauf les souches APEC qui peuvent entraîner des colibacilloses cliniques (Guabiraba et Schouler, 2015). Grace aux données collectées relatives aux conditions d'élevage des poulets (conditions de démarrage, ambiance dans les bâtiments, qualité des poussins ...) et aux souches d'*E. coli* isolées à partir des prélèvements d'environnement, de poussins et des épisodes de colibacillrose, l'étude COLISEE permettra de rechercher les facteurs déclenchants de la maladie en élevage en tenant compte de la virulence des souches d'*E. coli*, caractérisée par MALDI-TOF et PCR haut débit. Le développement de vaccins expérimentaux à partir de souches d'*E. Coli* issues de l'étude terrain, permettra également de proposer une approche vaccinale comme stratégie de prévention de la maladie.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée par l'UMT SANIVOL dans le cadre du projet CASDAR COLISEE (2017-2020, n°1608) grâce au financement de la DGER et du CIPC. Les auteurs remercient l'ensemble des éleveurs ayant participé à l'étude épidémiologique, ainsi que les organisations de production.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allain V., Mirabito L., Arnould C., Colas M., Le Bouquin S., Lupo C., Michel V. 2009. Br poultry Science, 50 (4), 407-417.
 Bergoug A, C. Burel, M. Guinebretière, Q. Tong, N. Roulston et al. 2013. World's Poultry Science Journal, Vol. 69.
 Giovanardi D, Campagnari E., Sperati Ruffoni L., Pesente P., Ortali G, Furlattini V. 2005. Avian Pathol, 34(4): 313-318.
 Goodwin M. and Waltman W. 1996. J Appl Poult Res, 5(1): 51-55.
 Guabiraba R and Schouler C. 2015. FEMS Microbiol Lett. Aug;362(15)
 Jones TA., C. A. Donnelly, M. Stamp Dawkins. 2005. Poultry Science 84, 1155-1165.
 Munsch G. 2015. La plume verte. N°38, mars 2015.
 Nolan L. et al. 2013. In : Diseases of poultry. John Wiley and Sons, pp751.
 Rezende C., Mallinson E. T, Tablante N. L., Morales R., Park A. 2001. J Appl Poult Res, 10: 245-251.
 Maatjens CM, I. A. M. van Roovert-Reijrink, I. van den Anker, B. Engel, et al. 2016. Poultry Science, 95, 2136-2144.
 Vandekerckhove D., P. De Herdt, H. Laevens, F. Pasmans. 2004. Avian Pathology 33(3), 337- 342

Figure 1. Détection d'*E. coli* à partir des chiffonnettes dans les 40 élevages.**Figure 2.** Détection d'*E. coli* à partir des poussins dans les 40 élevages.**Tableau 1.** Les cas de colibacilloses signalés dans les 40 élevages

	Signes cliniques	Durée moyenne de la maladie	Taux de mortalité moyen associé à la maladie	Organes avec lésions septicémiques et isolement d' <i>E. coli</i>
Colibacillose précoce <10j (n=12 lots)	Mortalité	5 jours (4 à 10j)	1.7% (0.7 à 2.9%)	Inflammation et congestion du vitellus (11 lots), Hypertrophie et inflammation du foie (9 lots), Inflammation du péricarde (5 lots), Hypertrophie de la rate (3 lots), Inflammation des articulations (1 lot)
Colibacillose tardive >10j (n=4 lots)	Mortalité (et boiteries)	12 jours (8 à 17j)	1.5% (1 à 1.8%)	Inflammation du foie (4 lots), Inflammation du péricarde (3 lots), Pus dans articulation tibio-tarsienne (2 lots), Inflammation des sacs aériens (2 lots)