

Les facteurs déclenchants de la colibacillose du poulet de chair : étude épidémiologique dans 80 élevages en France

Julie Puterflam¹, Pascal Galliot¹, Loïc Balaine², Isabelle Kempf³, Laetitia Le Devendec³, Camille Lucas², Stéphanie Bougeard², Sabine Delannoy⁴, Catherine Schouler⁵, Sophie Le Bouquin², Rozenn Souillard²

¹ ITAVI, Ploufragan, France

² ANSES, Unité Epidémiologie Santé et Bien être, laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, France

³ ANSES, Unité Mycoplasmodologie 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 boîte 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 entraînant une utilisation d'antibiotiques et des saignées 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, entraînant 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 Mycoplasma 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 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. 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 NH₃ 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 chiffonnets bâtiments, des poussins, des chiffonnets de fonds de boîte 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 boîte 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 boîtes) 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 boîte 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., *fliCH4*, *aec4*, *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 boîtes** 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 maîtrisées. 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 Roover-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



